

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 036675

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента

2020.12.07

(21) Номер заявки

201990819

(22) Дата подачи заявки

2017.09.28

(51) Int. Cl. C07D 519/06 (2006.01)

A61K 31/535 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

C07D 471/18 (2006.01)

(54) ИНГИБИТОРЫ БЕТА-ЛАКТАМАЗ

(31) 62/401,022

(32) 2016.09.28

(33) US

(43) 2019.08.30

(86) PCT/IB2017/055973

(87) WO 2018/060926 2018.04.05

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
НОВАРТИС АГ (CH)

(72) Изобретатель:

Казаре Энтони (US), Фурегати
Маркус, Кох Гвидо (CH), Лин Сяодун
(US), Оссола Флавио (CH), Рек
Фолькерт, Симмонс Роберт Лоуэлл,
Чжу Цинмин (US)

(74) Представитель:

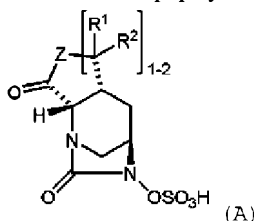
Медведев В.Н. (RU)

(56) WO-A2-2009091856

TRANQUILLINI M. E. ET AL.: "Synthesis and antimicrobial activity of 4-amino trinems", BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, AMSTERDAM, NL, vol. 6, no. 14, 23 July 1996 (1996-07-23), pages 1683-1688, XP004134921, ISSN: 0960-894X, DOI: 10.1016/0960-894X(96)00292-2, the whole document

BONNEFOY ALAIN ET AL.: "In vitro activity of AVE1330A, an innovative broad-spectrum non-.beta.-lactam.beta.-lactamase inhibitor", JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY, OXFORD UNIVERSITY PRESS, GB, vol. 54, no. 2, 1 January 2004 (2004-01-01), pages 410-417, XP002475045, ISSN: 0305-7453, DOI: 10.1093/JAC/DKH358 [retrieved on 2004-07-14], the whole document

(57) Изобретение в основном относится к соединениям формулы (A)



более подробно описанным в настоящем изобретении, которые действуют как ингибиторы бета-лактамаз, и их солям, кристаллическим формам и составам. В определенных аспектах изобретение относится к способам применения таких соединений в комбинации с бета-лактамым антибиотиком для лечения инфекций, вызываемых грамотрицательными бактериями, включая лекарственно-резистентные штаммы.

B1

036675

036675 B1

Область, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к соединениям, которые ингибируют бета-лактамазы, способам получения таких соединений и их применению в комбинации с бета-лактамами антибиотиками для лечения бактериальных инфекций.

Предпосылки создания изобретения

За последние несколько десятилетий частота возникновения резистентности к противомикробным препаратам и ее связь с серьезными инфекционными заболеваниями увеличиваются с угрожающей скоростью. Растущая распространенность резистентности среди нозокомиальных патогенов вызывает особое беспокойство. Из более чем 2 млн внутрибольничных инфекций, возникающих каждый год в Соединенных Штатах, от 50 до 60% вызываются резистентными к противомикробным препаратам штаммами бактерий. Высокий уровень резистентности к обычно используемым антибактериальным средствам увеличивает заболеваемость, смертность и затраты, связанные с внутрибольничными инфекциями. Считается, что в Соединенных Штатах внутрибольничные инфекции способствуют или вызывают более 77 000 смертей в год и обходятся примерно в 5-10 млрд долларов в год.

Среди наиболее значимых антибиотиков, доступных в настоящее время, существует несколько классов соединений, которые содержат бета-лактамно кольцо, включая пенициллины, пенициллины, цефалоспорины, монобактамы и сульфактамы. Эти бета-лактамы антибиотики ингибируют биосинтез клеточной стенки путем связывания с белками, называемыми пенициллин-связывающими белками (PBP), которые являются существенно важными для синтеза пептидогликана, основного компонента клеточной стенки грамотрицательных и грамположительных бактерий. Хотя значение бета-лактамы антибиотиков во всем мире остается чрезвычайно важным, их широкое применение привело к большой и растущей проблеме: бактерии развили резистентность к бета-лактамам, как и к большинству других существующих антибиотиков. Действительно, Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) считает резистентность к антибиотикам "серьезной всемирной угрозой..."

Было идентифицировано несколько различных механизмов резистентности к бета-лактамы антибиотикам: некоторые резистентные штаммы имеют эффлюксные насосы для выведения антибиотика, а другие вырабатывают мутантные PBP, которые менее чувствительны к антибиотикам. Вызывающей особую тревогу формой резистентности является развитие бактериальных ферментов, которые взаимодействуют с этими антибиотиками, разрушая антибиотик путем раскрытия бета-лактамно кольца. Эти разрушающие антибиотики ферменты называют бета-лактамазами, и они особенно проблематичны, поскольку они могут придавать резистентность ко многим различным бета-лактамы антибиотикам и могут передаваться через плазмиды между различными бактериальными штаммами и видами. Среди грамотрицательных бактерий существует четыре класса бета-лактамаз, сериновые бета-лактамазы классов A, C и D и металло-бета-лактамазы (класс B).

Важные причины резистентности к бета-лактамы антибиотикам включают бета-лактамазы расширенного спектра (ESBL), сериновые карбапенемазы класса A (например, KPC-2) и класса D (например, OXA-48) в *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* и *Proteus mirabilis*, а также высокий уровень резистентности к цефалоспорином третьего поколения, опосредованный классом C бета-лактамазой AmpC, среди видов *Enterobacter* и *Citrobacter freundii*, а также штаммы с множественной лекарственной резистентностью *Pseudomonas*, *Acinetobacter* и *Stenotrophomonas*. Проблема антибактериальной резистентности усугубляется существованием бактериальных штаммов, содержащих различные бета-лактамазы. Например, *Klebsiella pneumoniae*, несущая NDM-1 металло-бета-лактамазу, часто несет дополнительные серин-бета-лактамазы на той же плазмиде, которая несет NDM-1.

Поскольку бета-лактамы антибиотики являются одними из немногих классов, которые эффективны против грамотрицательных бактерий, было предпринято много усилий для поддержания их способности контролировать резистентные бактериальные штаммы, чтобы не потерять эти чрезвычайно ценные антибактериальные средства. Например, некоторые бета-лактамы были структурно модифицированы, чтобы сделать их менее чувствительными к бета-лактамазам, хотя этот подход осложняется тем, что уже существует множество различных бета-лактамаз и постоянно появляются новые. Другой подход включал ингибирование бета-лактамы ферментов, которые разрушают эти антибиотики, используя низкомолекулярный ингибитор бета-лактамазы (BLI) в комбинации с бета-лактамы антибиотиком. Эти BLI можно использовать в комбинации с одобренным бета-лактамы антибиотиком для лечения пациентов, инфицированных бактериями, которые резистентны только к антибиотикам из-за бета-лактамы активности. Примеры одобренных BLI включают клавулановую кислоту, сульфактам, тазобактам и авибактам. Другие (релебактам, ваборбактам (RPX7009), зидебактам и накубактам), как сообщалось, находятся в разработке.

У грамположительных организмов резистентность к пенициллину, опосредованная бета-лактамазами пенициллиназного типа, является важным механизмом резистентности в *Staphylococcus aureus* (MSSA). Опосредованная бета-лактамазой резистентность к пенициллинам также обнаружена у анаэробных видов, таких как бактериоиды.

Три наиболее часто используемых ингибитора сериновых бета-лактамаз, клавулановая кислота, тазобактам и сульфактам, обладают сильной активностью только в отношении некоторых бета-лактамаз

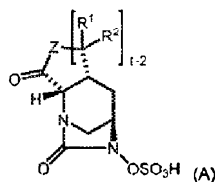
класса А, за исключением серинкарбапенемаз. Авибактам является членом диазациклооктанового (ДВО) класса ингибиторов бета-лактамаз и имеет широкий охват класса А (включая КРС), класса С и некоторого ингибирования класса D. Наряду с ингибированием бета-лактамаз, авибактам также обладает антибактериальной активностью против некоторых клинических штаммов путем ингибирования пенициллин-связывающего белка 2 (PBP-2) (Asli et al., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60, No 2, 752, 2016). Антибактериальные соединения с таким механизмом действия, включая ДВО, выбирают на основании резистентности с высокой регулярностью *in vitro* (Doumith et al., *J. Antimicrobial Chemotherapy* 2016, 71, 2810-2814). По этой причине какое-либо потенциальное клиническое преимущество внутренней присущей антибактериальной активности некоторых ингибиторов ДВО бета-лактамаз в настоящее время неясно. Слабая антибактериальная активность авибактама может не быть клинически значимой, поскольку клиническая доза авибактама довольно низкая, однако это может осложнить тестирование чувствительности *in vitro* и/или промотировать резистентность. *In vitro* тестирование чувствительности комбинаций авибактам/бета-лактамаз против клинических изолятов обычно осуществляют с использованием высокой фиксированной концентрации авибактама (4 мкг/мл), которая по всей вероятности не отражает клинически достигаемые уровни. Непосредственный вклад авибактама в антибактериальную активность в этих искусственных условиях тестирования *in vitro* может повлиять на точность прогнозирования клинической эффективности комбинаций авибактама/бета-лактамазы. Ингибитор ДВО бета-лактамазы, не обладающий существенной антибактериальной активностью, не будет обладать этой дополнительной вмешивающейся активностью, и протоколы испытаний *in vitro* будут измерять только изменение бета-лактамаза-опосредованной резистентности в клинических изолятах, обеспечивая возможность более точного прогнозирования клинической эффективности на основе результатов испытания чувствительности *in vitro*.

Помимо ВЛІ, доступных в настоящее время для применения, другие соединения с ВЛІ активностью раскрыты в WO 2002/100860, US 2003/0199541, US 2004/0157826, WO 2008/039420 и WO 2009/091856, US 2010092443, WO 2010/126820, WO 2013/122888, WO 2013/038330, US 2013/0225554, WO 2013149121, WO 2013149136, WO 2014141132 и WO 2014/033560.

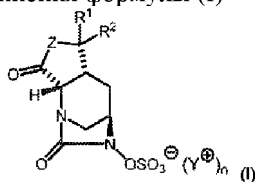
Фармакокинетические и физические свойства ранее описанных ВЛІ могут не быть идеальными для использования с каждым бета-лактамамным антибиотиком. Более того, известные ВЛІ, согласно сообщениям, со временем теряют эффективность (K. Bush, *Int. J. Antimicrob. Agents* 46(5), 483-93 (Nov 2015)), так как развиваются резистентные бактериальные штаммы и постоянно появляются новые бета-лактамазные ферменты. Соответственно, остается необходимость в новых ингибиторах бета-лактамазы для продления полезности ценных бета-лактамамных антибиотиков; действительно, новые ВЛІ могут также бороться с резистентностью к известным ВЛІ, а также с резистентностью к известным бета-лактамамным антибиотикам и тем, которые будут разработаны в будущем. Настоящее изобретение обеспечивает новые ингибиторы бета-лактамазы, которые усиливают действие различных бета-лактамамных антибиотиков, при этом они проявляют некоторую свою (непосредственную) собственную антибиотическую активность.

Сущность изобретения

Изобретение включает новые ВЛІ соединения, фармацевтические комбинации и композиции, содержащие такие соединения, и способы применения таких соединений и композиций для лечения пациентов с бактериальными инфекциями. ВЛІ используются в комбинации с бета-лактамамным антибиотиком, например, производными пенициллина, пенемом, карбапенемом, цефалоспорином (цефем), монобактамом или сульбактамом, и прежде всего они полезны для лечения грамотрицательных бактериальных инфекций, но также полезны для лечения грамположительных и анаэробных инфекций, где резистентность опосредована через продукцию бета-лактамазы бактерией. Изобретение включает соединения формулы (А) и их варианты



и соли этих соединений, включая соединения формулы (I)

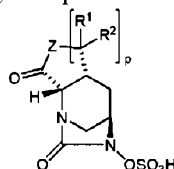


где соединения формулы (I) могут быть в солевой или цвиттер-ионной форме, как описано далее в настоящей заявке.

ВЛІ соединения по изобретению используют в комбинации с бета-лактамамным антибиотиком, примеры которого раскрыты в настоящей заявке, для лечения бактериальных инфекций, особенно грамотри-

цательных бактериальных инфекций. ВЛІ и бета-лактамы можно вводить вместе или отдельно, и ВЛІ повышает эффективность бета-лактама против, по меньшей мере, бактериальных штаммов, которые демонстрируют резистентность к бета-лактамам, где резистентность опосредована бета-лактамазной активностью. Комбинации бета-лактама и ВЛІ формулы (А) можно использовать для лечения инфекций, вызываемых грамотрицательными бактериями, в том числе энтеробактериями, такими как *Salmonella*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia* и *Citrobacter*, неферментирующими бактериями, в том числе *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter*, *Burkholderia*, *Moraxella* и *Stenotrophomonas*, а также анаэробными бактериями, такими как *Bacteroides fragilis* или *Bacteroides thetaiotaomicron*.

В одном аспекте изобретение обеспечивает новые соединения формулы (А) и формулы (I), включая их солевые или цвиттер-ионные формы, которые эффективны в качестве ингибиторов одной или более бактериальных бета-лактамаз. Более конкретно, изобретение обеспечивает соединения формулы (А)



где p имеет значение 1 или 2;

R^1 и R^2 независимо выбраны из H и C_1 - C_4 -алкила, необязательно замещенного -OR;

Z представляет собой NR^3 ;

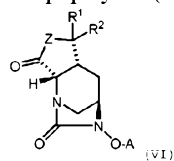
R^3 в каждом случае независимо выбран из H, Су и C_1 - C_4 -алкила, необязательно замещенного -OR или -NRR';

Су представляет собой C_3 - C_6 -циклоалкильное кольцо и

R и R' независимо выбраны из H и C_1 - C_4 -алкила;

или его солевую или цвиттер-ионную форму.

Также изобретение обеспечивает соединения формулы (VI)



где

R^1 и R^2 независимо выбраны из H и C_1 - C_4 -алкила, необязательно замещенного -OR;

Z представляет собой NR^3 ;

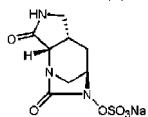
R^3 в каждом случае независимо выбран из H, Су и C_1 - C_4 -алкила, необязательно замещенного -OR или -NRR';

Су представляет собой C_3 - C_6 -циклоалкильное кольцо и

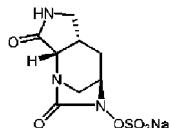
R и R' независимо выбраны из H и C_1 - C_4 -алкила;

A представляет собой H или $-CH_2-Ph$, где Ph представляет собой фенил, необязательно замещенный одной или двумя группами, выбранными из галогена, C_1 - C_4 -алкила, C_1 - C_4 -алкокси; или его соли.

В конкретном аспекте изобретение обеспечивает соединение формулы (VII)



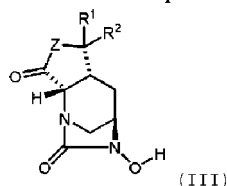
В другом конкретном аспекте изобретение обеспечивает кристаллическую форму соединения формулы (VII)



характеризующуюся пиками на XRPD при углах дифракции (2Тета) 8,3 и 16,6°.

Соединения являются полезными для потенцирования антибактериальной активности бета-лактама. Таким образом, их можно использовать в комбинации с бета-лактамом. ВЛІ и бета-лактамы можно вводить вместе или отдельно; в некоторых вариантах осуществления ВЛІ формулы (А) или формулы (I) и бета-лактамы объединяют в фармацевтической композиции, которая типично также включает по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель.

В одном аспекте изобретение обеспечивает способ получения соединений формулы (I), описанных в настоящей заявке. В частности, изобретение обеспечивает способ преобразования соединения формулы (III) в соединения формулы (I), который включает контактирование соединения формулы (III)



где Z, R¹ и R² и R³ такие, как определено ранее, с сульфонилирующим агентом в присутствии основания.

В другом аспекте изобретение обеспечивает фармацевтические композиции, содержащие соединение формулы (A) и формулы (I) в смеси с по меньшей мере одним фармацевтически приемлемым эксципиентом. В некоторых вариантах осуществления композиция включает два или более таких эксципиентов. В другом аспекте изобретение обеспечивает фармацевтические комбинации, содержащие соединения формулы (A) и формулы (I) в смеси с бета-лактамым антибиотиком.

В другом аспекте изобретение обеспечивает способ лечения грамотрицательной бактериальной инфекции, который включает введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, BLI формулы (A) или формулы (I), включая солевые и цвиттер-ионные формы.

В еще одном аспекте изобретение обеспечивает применение соединения формулы (A) или формулы (I), включая фармацевтически приемлемые солевые или цвиттер-ионные формы в лечении грамотрицательной бактериальной инфекции.

В другом аспекте изобретение обеспечивает способ лечения субъекта, имеющего грамотрицательную бактериальную инфекцию, который включает введение субъекту, нуждающемуся в этом, антибактериально эффективного количества бета-лактамного антибиотика и эффективного количества BLI формулы (A) или формулы (I), включая солевые и цвиттер-ионные формы, необязательно в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем.

В некоторых вариантах осуществления субъектом является млекопитающее, и в некоторых вариантах осуществления субъектом является человек. Бета-лактамный антибиотик и BLI соединение формулы (A) или формулы (I) можно вводить одновременно или отдельно и в любом порядке, при условии, что BLI должен присутствовать *in vivo* одновременно с бета-лактамым антибиотиком для потенцирования эффективности бета-лактамного антибиотика.

Грамотрицательные бактерии могут представлять собой бактерии рода, выбранного из Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Morganella, Proteus, Salmonella, Serratia, Pseudomonas, Acinetobacter, Bacteroides, Burkholderia, Campylobacter, Neisseria и Stenotrophomonas. В частности, бактериальная инфекция, вызываемая видами Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Morganella, Proteus, Salmonella, Serratia, Pseudomonas или Acinetobacter, лечится способами, раскрытыми в настоящей заявке. Конкретные бактериальные виды для такого лечения включают Citrobacter freundii, Citrobacter koseri, Enterobacter cloacae, Enterobacter aerogenes, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca, Morganella morganii, Proteus mirabilis, Salmonella species, Serratia marcescens, Pseudomonas aeruginosa и Acinetobacter baumannii, а также Bacteroides fragilis, Burkholderia cepacia, Campylobacter jejuni, Neisseria gonorrhoeae и Stenotrophomonas maltophilia.

Более подробно аспекты изобретения обсуждаются ниже.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1. SEM кристаллического соединения формулы (VII).

Фиг. 2. XRPD (порошковая рентгеновская дифрактограмма) кристаллического соединения формулы (VII).

Фиг. 3. Термогравиметрический анализ и анализ методом дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллического соединения формулы (VII).

Подробное описание изобретения

В целях интерпретации настоящего описания применимы следующие определения, если только не указано иное или из контекста явно не следует обратное. Где это является подходящим, термины, используемые в единственном числе, также включают множественное число и наоборот.

Определения

Термины, используемые в настоящем описании, имеют следующие значения:

В контексте настоящей заявки термин "субъект" относится к животному. В некоторых аспектах животное является млекопитающим. Субъект также относится, например, к приматам (например, человеку), коровам, овцам, козам, лошадям, собакам, кошкам, кроликам, крысам, мышам, рыбам, птицам и т.п. В некоторых вариантах осуществления субъектом является человек.

В контексте настоящей заявки термин "ингибирование" или "осуществлять ингибирование" относится к уменьшению или подавлению данного состояния, симптома или расстройства или заболевания, или к существенному снижению базальной активности биологической активности или процесса, или

снижению жизнеспособности, количества или скорости роста бактериальной популяции.

В контексте настоящей заявки термин "осуществлять лечение" или "лечение" любого заболевания или расстройства относится в одном варианте осуществления к ослаблению заболевания или расстройства (т.е. замедлению или остановке или уменьшению развития заболевания или по меньшей мере одного из его клинических симптомов). В другом варианте осуществления "осуществлять лечение" или "лечение" относится к облегчению или улучшению по меньшей мере одного физического параметра, включая параметры, которые не могут быть различимы пациентом. В еще одном варианте осуществления "осуществлять лечение" или "лечение" относится к модуляции заболевания или расстройства либо физически (например, стабилизация различного симптома), либо физиологически (например, стабилизация физического параметра), или и тем и иным образом. В еще одном варианте осуществления "осуществлять лечение" или "лечение" относится к предотвращению или задержке начала или развития или прогрессирования заболевания или расстройства.

Все способы, описанные в настоящей заявке, можно осуществлять в любом подходящем порядке, если не указано иное или если это явно не противоречит контексту. Использование любых возможных примеров или относящихся к иллюстрации фраз (например, "такой как"), представленных в настоящей заявке, предназначено просто для лучшего освещения изобретения и не ограничивает объем изобретения, заявленный иным образом.

Термин "антибактериальное средство" относится к средствам, синтезированным или модифицированным в лаборатории, которые обладают либо бактерицидной, либо бактериостатической активностью. "Активное" средство в этом контексте будет ингибировать рост *P. aeruginosa* и/или других грамотрицательных бактерий. Термин "ингибирование роста" указывает на то, что скорость увеличения численности популяции конкретной бактерии снижается. Таким образом, этот термин включает ситуации, когда популяция бактерий увеличивается, но с пониженной скоростью, а также ситуации, когда рост популяции останавливается, а также ситуации, когда количество бактерий в популяции уменьшается или даже когда популяция уничтожена.

Термин "бета-лактамы" относится к антибактериальному средству, которое содержит 4-членное лактамное кольцо, также называемому бета-лактамом, которое обладает антибактериальной активностью. Классы бета-лактамов включают пенициллины, цефалоспорины, монобактамы, карбапенемы, оксапенемы, цефемы, карбацефемы, оксацефемы, пены, пены, сульбактамы и клавамы. Конкретные бета-лактамы, подходящие для применения в способах и композициях по изобретению, описаны в настоящей заявке и включают азтреонам, пиперациллин, цефтазидим, меропенем и бета-лактамы 5.

В контексте настоящей заявки термин "бета-лактамаза" относится к ферментативной активности, которой обладает или которую проявляет бактерия, которая катализирует разрушение или инактивацию бета-лактамового антибиотика. Как правило, она катализирует гидролиз бета-лактамового кольца моноциклического или бициклического бета-лактамового антибиотика и экспрессируется в грамотрицательных или грамположительных бактериях, которые могут вызывать инфекцию у млекопитающих, особенно у людей. Представляющие интерес бета-лактамазы включают бета-лактамазы класса А (включая бета-лактамазы расширенного спектра и сериновые карбапенемазы), а также классов С и D.

В контексте настоящей заявки термин "ингибитор бета-лактамазы" или "BLI" относится к соединению, которое ингибирует по меньшей мере одну бактериальную бета-лактамазу. Это означает, что оно ингибирует по меньшей мере один член из классов сериновых бета-лактамаз, например, бета-лактамазу класса А, С или D. Путем уменьшения активности бета-лактамазы эти соединения повышают активность бета-лактамового антибиотика, используемого в комбинации с BLI; этот эффект указан в настоящей заявке как потенцирование, поскольку BLI не обладает значительной собственной антибактериальной активностью, но стимулирует или усиливает антибактериальную активность антибиотика в бактериях, которые обладают бета-лактамазной активностью. Потенцирование является результатом того, что BLI позволяет бета-лактамовому антибиотику дольше сохраняться *in vivo* в бактериальном периплазматическом компартменте или вблизи бактериальных патогенов, что делает антибиотик более эффективным или делает его эффективным при более низкой дозе, чем потребовалось бы в отсутствие BLI формулы (А). Предпочтительно, BLI является эффективным при 50% ингибирующей концентрации ниже чем около 100 мкг/мл (микрограмм/мл) или ниже чем около 50 мкг/мл или ниже чем около 25 мкг/мл.

Подходящие бета-лактамы антибиотиков для применения в комбинации с BLI по изобретению включают, например, азтреонам, имипенем, эртапенем, меропенем, дорипенем, биापенем, пиперациллин, цефтриаксон, цефоперазон, цефотаксим, цефтазидим, цефтолозан, цефепим, панипенем, тикарциллин, ампициллин, амоксициллин, карбенициллин, азлоциллин, мезлоциллин, тикарциллин, цефоперазон, бета-лактамы 5 (показан в настоящей заявке) и т.п.

"Необязательно замещенный" означает, что указанная группа может быть замещена в одном или нескольких положениях любым одним или любой комбинацией радикалов, перечисленных ниже. Такое замещение включает замену атома водорода незамещенной группы другой группой, таким образом, число заместителей, которые могут быть присоединены к любой незамещенной группе, равно количеству атомов водорода в незамещенной группе. Если не указано иное, "необязательно замещенный" означает,

что может присутствовать до трех неводородных групп заместителей.

В контексте настоящей заявки термин "гало" или "галоген" может означать фтор, хлор, бром или иод.

В контексте настоящей заявки "C₁-C₆-алкил" или "C₁₋₆алкил" означает линейный или разветвленный алкил, содержащий 1-6 атомов углерода. Если указано другое количество атомов углерода, такое как C₈ или C₃, тогда определение следует интерпретировать соответствующим образом, например, "C₁-C₄-алкил" будет включать метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, втор-бутил и трет-бутил.

В контексте настоящей заявки "C₁-C₆-алкокси" или "C₁₋₆алкокси" означает линейный или разветвленный алкокси, содержащий 1-6 атомов углерода. Если указано другое количество атомов углерода, такое как C₈ или C₃, тогда определение следует интерпретировать соответствующим образом, например, "C₁-C₄-алкокси" будет представлять собой метокси, этокси, пропокси, изопропокси, бутокси, изобутокси, втор-бутокси и трет-бутокси.

В контексте настоящей заявки "C₁-C₄-галогеналкил" или "C₁₋₄галогеналкил" означает линейный или разветвленный алкил, содержащий 1-4 атомов углерода, где по меньшей мере один водород замещен галогеном. Если указано другое количество атомов углерода, такое как C₆ или C₃, тогда определение следует интерпретировать соответствующим образом, следовательно, "C₁-C₄-галогеналкил" будет представлять собой метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, втор-бутил и трет-бутил, в которых по меньшей мере один водород замещен галогеном, например, где галоген представляет собой фтор: CF₃CF₂-, (CF₃)₂CH-, CH₃-CF₂-, CF₃CF₂-, CF₃, CF₂H-, CF₃CF₂CHCF₃ или CF₃CF₂CF₂CF₂-.

В контексте настоящей заявки "C₃-C₈-циклоалкил" или "C₃₋₈циклоалкил" относится к насыщенному моноциклическому углеводородному кольцу из 3-8 атомов углерода. Примеры таких групп включают циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклогексил. Если указано другое количество атомов углерода, такое как C₃-C₆, тогда определение следует интерпретировать соответствующим образом.

"4-8-членный гетероциклил", "5-6-членный гетероциклил", "3-10-членный гетероциклил", "3-14-членный гетероциклил", "4-14-членный гетероциклил" и "5-14-членный гетероциклил" относятся соответственно к 4-8-членным, 5-6-членным, 3-10-членным, 3-14-членным, 4-14-членным и 5-14-членным гетероциклическим кольцам, содержащим 1-7, 1-5 или 1-4 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из азота, кислорода и серы, которые могут быть насыщенными или частично насыщенными. "Гетероциклический" можно использовать взаимозаменяемо с "гетероциклилом". Гетероциклическая группа может быть присоединена по гетероатому или атому углерода. Термин "гетероциклил" включает группы с одним кольцом, конденсированные кольцевые группы и связанные мостиковой связью группы. Примеры такого гетероциклила включают, но не ограничиваются этим, пирролидин, пиперидин, пиперазин, оксазолидин, пирролидинон, морфолин, тетрагидрофуран, тетрагидротиофен, тетрагидротиопиран, тетрагидропиран, 1,4-диоксан, 1,4-оксатиан, 8-азабицикло[3.2.1]октан, 3,8-диазабицикло[3.2.1]октан, 3-окса-8-азабицикло[3.2.1]октан, 8-окса-3-азабицикло[3.2.1]октан, 2-окса-5-азабицикло[2.2.1]гептан, 2,5-диазабицикло[2.2.1]гептан, азетидин, этилендиоксо, оксетан и тиазолидин. Предпочтительно гетероциклическая или гетероциклильная группа представляет собой насыщенную или частично насыщенную моноциклическую группу, если не указано иное, и содержит 5-7 кольцевых атомов и при этом вплотную до двух гетероатомов, выбранных из N, O и S, в качестве членов кольца. В некоторых вариантах осуществления гетероциклическая группа также включает бициклические кольцевые системы, содержащие 1 или 2 гетероатома, таких как N, O или S, в качестве членов кольца и включающие два конденсированных 3-, 4-, 5- или 6-членных кольца, такие как 3-азабицикло[3.1.0]гексан, 8-азабицикло[3.2.1]октан, 3,8-диазабицикло[3.2.1]октан, 3-окса-8-азабицикло[3.2.1]октан, 8-окса-3-азабицикло[3.2.1]октан, 2-окса-5-азабицикло[2.2.1]гептан, 2,5-диазабицикло[2.2.1]гептан.

"Гетероарил" представляет собой полностью ненасыщенное (ароматическое) кольцо. Термин "гетероарил" относится к 5-14-членной моноциклической или бициклической или трициклической ароматической кольцевой системе, содержащей 1-8 гетероатомов, выбранных из N, O и S. Типично, гетероарил представляет собой 5-10 членную кольцевую систему (например, 5-6 членный моноцикл или 8-10-членный бицикл) или 5-6 членную кольцевую систему. Если не указано иное, гетероарил предпочтительно представляет собой отдельное 5-6 членное кольцо, содержащее до 4 гетероатомов, выбранных из N, O и S, в качестве членов кольца. Типичные гетероарильные группы включают фуран, изотиазол, тиадиазол, оксадиазол, индазол, индол, хинолин, 2- или 3-тиенил; 2- или 3-фурил; 2- или 3-пирролил; 1-, 2-, 4- или 5-имидазол; 1, 3-, 4- или 5- пиразолил; 2-, 4- или 5-тиазолил, 3-, 4- или 5-изотиазолил, 2-, 4- или 5-оксазолил, 3-, 4- или 5-изоксазолил, 3- или 5-(1,2,4-триазолил), 4- или 5-(1,2,3-триазолил), тетразолил, триазин, пиримидин, 2-, 3- или 4-пиридил, 3- или 4-пиридазинил, 3-, 4- или 5-пиразинил, 2-пиразинил и 2-, 4- или 5-пиримидинил.

Термин "гидрокси" или "гидроксил" относится к группе -ОН или, когда он используется как часть названия группы, например, гидроксиалкил, он относится к названной группе, замещенной группой -ОН.

"Цвиттер-ион" представляет собой молекулу, которая имеет как положительно заряженные, так и отрицательно заряженные группы, но не имеет общего заряда, то есть + и - заряды сбалансированы внутри молекулы. Чтобы превратить анионную молекулу в нейтральную молекулу, анионы обычно заменяют на нейтральные группы, но для преобразования анионной молекулы в цвиттер-ион нейтральную группу

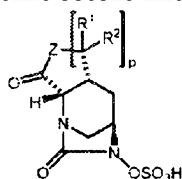
заменяют катионной группой.

Соединения формулы (A) существуют в свободной форме, в виде соли или в виде цвиттер-иона. В настоящем описании, если не указано иное, фразу, такую как "соединения формулы (A)", следует понимать как охватывающую соединения в любой форме, например, в форме свободного основания или кислотнo-аддитивной или полученной реакцией обмена соли. Также включены соли, которые могут быть непригодны для фармацевтического применения, но которые можно использовать, например, для выделения или очистки свободных соединений формулы (A), такие как пикраты или перхлораты. Для терапевтического применения используются, и поэтому они предпочтительны, только фармацевтически приемлемые соли, цвиттер-ионы или свободные соединения (если это применимо, в форме фармацевтических препаратов). Предпочтительно соли представляют собой физиологически приемлемые соли, образующиеся, когда это применимо, путем добавления кислоты или основания или путем ионного обмена.

Соединения формулы (A) могут существовать в форме различных цвиттер-ионов. Например, соединения формулы (A) могут иметь протонированные аминогруппы и депротонированные сульфатные группы. В настоящем описании графическое представление соединения в свободной форме включает также другие возможные цвиттер-ионы. Цвиттер-ионы соединений формулы (A) также охватываются изобретением.

Соединения формулы (A) могут существовать в оптически активной форме или в форме смесей оптических изомеров, например, в форме рацемических смесей или диастереомерных смесей. В частности, асимметричный атом(атомы) углерода может присутствовать в соединениях формулы (A) и их солях. Все оптические изомеры и их смеси, включая рацемические смеси, охватываются изобретением. Различные варианты осуществления изобретения описаны в настоящей заявке. Должно быть понятно, что характерные признаки, указанные в каждом варианте осуществления, могут быть объединены с другими указанными характерными признаками для обеспечения дополнительных вариантов осуществления. Следующие пронумерованные варианты осуществления представляют дополнительные аспекты изобретения.

В одном варианте осуществления изобретение обеспечивает соединения формулы (A):



где p имеет значение 1 или 2;

R^1 и R^2 независимо выбраны из H и C_1 - C_4 -алкила, необязательно замещенного -OR;

Z представляет собой NR^3 ;

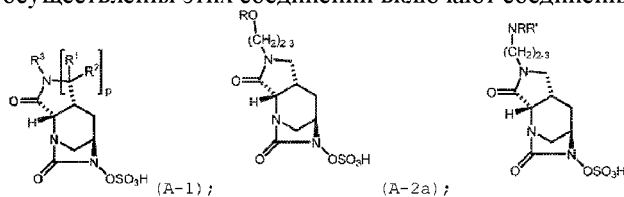
R^3 в каждом случае независимо выбран из H, Су и C_1 - C_4 -алкила, необязательно замещенного -OR или -NRR';

Су представляет собой C_3 - C_6 -циклоалкильное кольцо и

R и R' независимо выбраны из H и C_1 - C_4 -алкила

или их солевую или цвиттер-ионную форму.

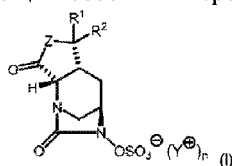
Конкретные варианты осуществления этих соединений включают соединения следующих формул



или

или их солевые или цвиттер-ионные формы.

Вариантом осуществления, представляющим особый интерес, является соединение формулы (I)



где

R^1 и R^2 независимо выбраны из H и C_1 - C_4 -алкила, необязательно замещенного -OR;

Z представляет собой NR^3 ;

R^3 в каждом случае независимо выбран из H, Су и C_1 - C_4 -алкила, необязательно замещенного -OR или -NRR';

Су представляет собой C_3 - C_6 -циклоалкильное кольцо и

R и R' независимо выбраны из H и C₁-C₄-алкила;

Y представляет собой катионную группу;

n имеет значение 0 или 1; и

когда n имеет значение 0, соединение формулы I находится в цвиттер-ионной форме.

Каждое из соединений представленных примеров представляет собой конкретный вариант осуществления изобретения.

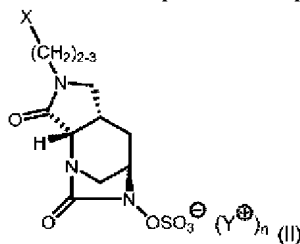
Соединение любого из предшествующих вариантов осуществления, где Z представляет собой NR³, и R³ представляет собой H или C₁-C₄-алкил, необязательно замещенный группой -OR или -NRR', или его солевая или цвиттер-ионная форма.

Соединение варианта осуществления 4, где R³ представляет собой C₁-C₂-алкил, необязательно замещенный группой -OR или -NRR', или его солевая или цвиттер-ионная форма.

Соединение варианта осуществления 4, где R³ представляет собой H, или его солевая или цвиттер-ионная форма.

Соединение любого из вариантов осуществления 1-3, где R¹ и R² оба представляют собой H, или его солевая или цвиттер-ионная форма.

Соединение варианта осуществления 1 или 3, которое имеет представленную ниже структуру:



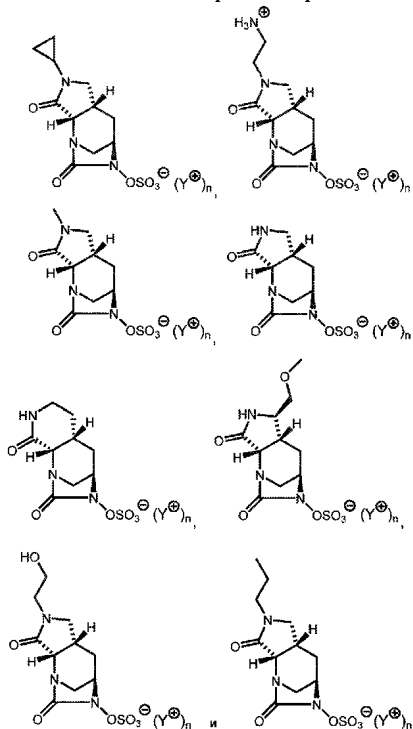
где X представляет собой -OR или -NRR';

Y представляет собой катионную группу;

n имеет значение 0 или 1 и

когда n имеет значение 0, соединение формулы II находится в цвиттер-ионной форме.

Соединение варианта осуществления 1 или 3, которое выбрано из



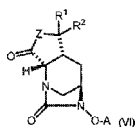
в виде его солевой или цвиттер-ионной формы.

Соединение любого из предшествующих вариантов осуществления, где n имеет значение 1 и Y выбран из натрия, калия, аммония, кальция, магния, железа, серебра, цинка и меди.

Соединение любого из предшествующих вариантов осуществления, где Y представляет собой натрий.

Соединение любого из предшествующих вариантов осуществления, которое представляет собой фармацевтически приемлемую соль или цвиттер-ион.

Вариантом осуществления, представляющим особый интерес, является соединение формулы (VI)



где

R^1 и R^2 независимо выбраны из H и C_1 - C_4 -алкила, необязательно замещенного -OR;

Z представляет собой NR^3 ;

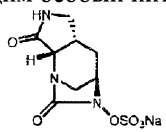
R^3 в каждом случае независимо выбран из H, Су и C_1 - C_4 -алкила, необязательно замещенного -OR или -NRR';

Су представляет собой C_3 - C_6 -циклоалкильное кольцо и

R и R' независимо выбраны из H и C_1 - C_4 -алкила;

A представляет собой H или $-CH_2$ -Ph, где Ph представляет собой фенил, необязательно замещенный одной или двумя группами, выбранными из галогена, C_1 - C_4 -алкила, C_1 - C_4 -алкокси; или его соль.

Вариантом осуществления, представляющим особый интерес, является соединение формулы (VII)



Соединение варианта осуществления 12 в кристаллической форме.

Соединение варианта осуществления 13, которое демонстрирует эндотерму на термограмме дифференциальной сканирующей калориметрии между 283 и 350°C.

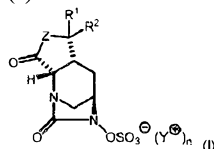
Соединение варианта осуществления 13, характеризующееся пиками на XRPD при углах дифракции (2Тета) 8,3 и 16,6°.

Соединение варианта осуществления 15, дополнительно характеризующееся одним или более дополнительными пиками на XRPD при углах дифракции (2Тета) 25,1 или 31,3°.

Соединение варианта осуществления 16, дополнительно характеризующееся одним или более дополнительными пиками на XRPD при углах дифракции (2Тета) 27,4 или 28,7°.

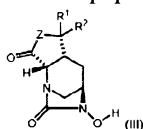
Соединение варианта осуществления 17, дополнительно характеризующееся дополнительными пиками на XRPD при углах дифракции (2Тета) 19,5 или 21,7°.

Способ получения соединения формулы (I)



в соответствии с вариантом осуществления 3 в виде его солевой или цвиттер-ионной формы;

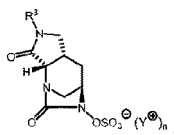
где способ включает контактирование соединения формулы (III)



где Z, R^1 и R^2 и R^3 имеют значения, определенные в варианте осуществления 3, с сульфонилирующим агентом в присутствии основания.

Способ варианта осуществления 19, где Z представляет собой NR^3 , и R^3 представляет собой H или C_1 - C_2 -алкил, необязательно замещенный группой -OR или -NRR'.

Способ варианта осуществления 19 или 20, где соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы

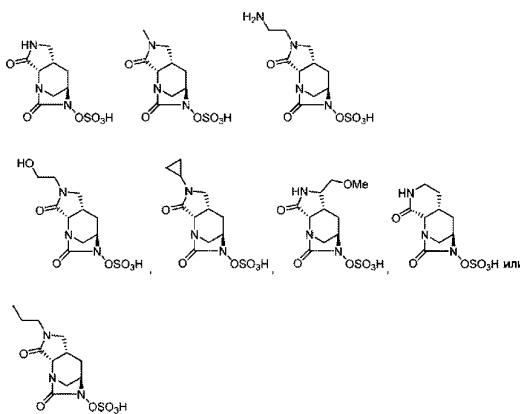


или его солевую или цвиттер-ионную форму.

Способ любого из вариантов осуществления 19-21, где R^3 представляет собой H.

Соединения формулы (III) являются полезными для синтеза соединений формулы (I), описанных в варианте осуществления 3 и других вариантах осуществления выше.

Конкретные соединения формулы (A) и формулы (I) включают



или их соли или цвиттер-ионы.

В следующем аспекте изобретение обеспечивает

Фармацевтическую комбинацию, содержащую соединение по изобретению, например, соединение формулы (A) или любой ее подформулы, описанное в настоящей заявке, и бета-лактамы антибиотик.

Способ, определенный выше, включающий совместное введение, например, одновременно или последовательно, терапевтически эффективного количества соединения по изобретению, например, соединения формулы (A) или любой ее подформулы, которое описано в настоящей заявке, и бета-лактамы антибиотика, описанного выше.

Термины "совместное введение" или "комбинированное введение" или подобные, используемые в настоящей заявке, предназначены для охвата введения выбранных терапевтических средств одному пациенту и предназначены для включения режимов лечения, в которых средства необязательно вводят одним и тем же путем введения или в одно и то же время. Фиксированные комбинации также входят в объем настоящего изобретения. Введение фармацевтической комбинации по изобретению приводит к благоприятному эффекту, например синергическому терапевтическому эффекту, в отличие от монотерапии с применением только одного из ее фармацевтически активных ингредиентов.

Каждый компонент комбинации в соответствии с настоящим изобретением можно вводить отдельно, вместе или в любой комбинации из вышеуказанных.

Соединение по изобретению и любое дополнительное средство можно сформулировать в виде отдельных лекарственных форм. Альтернативно, чтобы уменьшить количество лекарственных форм, вводимых пациенту, соединение по изобретению и любое дополнительное средство можно сформулировать вместе в любой комбинации. Например, соединение ингибитора по изобретению можно сформулировать в одну лекарственную форму, а дополнительное средство можно сформулировать вместе в виде другой лекарственной формы. Любые отдельные лекарственные формы можно вводить одновременно или в разное время.

Альтернативно, композиция по настоящему изобретению включает дополнительное средство, описанное в настоящей заявке. Каждый компонент может присутствовать в отдельных композициях, комбинированных композициях или в одной композиции.

Соединения по изобретению можно синтезировать общими способами синтеза, приведенными ниже, конкретные примеры которых более подробно описаны в примерах.

Соединения по настоящему изобретению и промежуточные соединения также можно преобразовывать одно в другое в соответствии со способами, хорошо известными специалистам в данной области.

В рамках настоящего текста только легко удаляемая группа, которая является составной частью конкретного желаемого конечного продукта соединений по настоящему изобретению, указана как "защитная группа", если контекст не указывает иное. Защита функциональных групп такими защитными группами, сами защитные группы и реакции их отщепления описаны, например, в стандартных справочниках, таких как McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London and New York 1973, T. W. Greene and P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Third edition, Wiley, New York 1999, "The Peptides"; Volume 3 (editors: E. Gross and J. Meienhofer), Academic Press, London and New York 1981, "Methoden der organischen Chemie" (Methods of Organic Chemistry), Houben Weyl, 4th edition, Volume 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, H.-D. Jakubke and H. Jeschkeit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine" (Amino acids, Peptides, Proteins), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, and Basel 1982, а также Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate" (Chemistry of Carbohydrates: Monosaccharides and Derivatives), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Характерной особенностью защитных групп является то, что их легко можно удалить (т.е. без возникновения нежелательных побочных реакций), например, путем сольволиза, восстановления, фотолиза или, альтернативно, в физиологических условиях (например, путем ферментативного расщепления).

Соли соединений по настоящему изобретению, содержащих по меньшей мере одну солеобразующую группу, можно получить способом, известным специалистам в данной области. Например, соли

соединений по настоящему изобретению, содержащих кислотные группы, могут быть получены, например, путем обработки соединений или соли соединений, такой как тетрабутиламмониевая соль, соединениями металлов, такими как соли щелочных металлов с подходящими органическими карбоновыми кислотами, например натриевая соль 2-этилгексановой кислоты, в подходящем растворителе, таком как смесь изобутанол/вода, что может способствовать осаждению нежелательной ионной пары (например, тетрабутиламмоний-2-этилгексаноат, если используется соль тетрабутиламмония). Предпочтительно соль соединения по изобретению, такую как аммониевая соль, можно подвергнуть взаимодействию с ионообменной смолой в форме ее соединения с щелочным металлом или щелочно-земельным металлом для промотирования противоположного обмена. Кислотно-аддитивные или образуемые путем обмена соли соединений по настоящему изобретению получают обычным способом, например, обработкой соединений кислотой или подходящим анионообменным реагентом. Цвиттер-ионы или внутренние соли соединений по настоящему изобретению, содержащие кислотные и основные солеобразующие группы, например свободную сульфатную группу и свободную аминогруппу, можно получить, например, путем нейтрализации солей, таких как кислотно-аддитивные соли, до изоэлектрической точки, например, с использованием слабых оснований или путем обработки ионообменными смолами.

Соли можно преобразовать в свободные соединения в соответствии со способами, известными специалистам в данной области. Гидрохлоридные соли могут быть преобразованы, например, путем обработки подходящим основным реагентом. Смеси изомеров, которые могут быть получены в соответствии с изобретением, обычно можно разделить способом, известным специалистам в данной области, на отдельные изомеры; диастереоизомеры можно разделить, например, путем распределения между полифазными смесями растворителей, перекристаллизацией и/или хроматографическим разделением, например, над силикагелем или, например, жидкостной хроматографией среднего давления на колонке с обращенной фазой, и рацематы можно разделить, например, путем образования солей с оптически чистыми солеобразующими реагентами и разделения смеси диастереоизомеров, получаемых таким образом, например, фракционной кристаллизацией или хроматографией на оптически активных материалах колонки.

Промежуточные продукты и конечные продукты могут быть обработаны и/или очищены в соответствии со стандартными методами, например, с использованием хроматографических методов, методов распределения, (пере)кристаллизации и т.п.

Нижеследующее относится в целом ко всем способам, указанным выше и далее в настоящей заявке.

Все технологические стадии получения соединений по изобретению можно осуществлять в реакционных условиях, которые известны специалистам в данной области, включая конкретно указанные условия, в отсутствие или, как правило, в присутствии растворителей или разбавителей, включая, например, растворители или разбавители, которые являются инертными по отношению к используемым реагентам и растворяют их, в отсутствие или в присутствии катализаторов, агентов конденсации или нейтрализующих агентов, например, ионообменных материалов, таких как катиониты, например, в форме H^+ , в зависимости от природы реакции и/или реагентов при пониженной, нормальной или повышенной температуре, например, в диапазоне температур от около -100 до около 190°C , включая, например, от около -80 до около 150°C , например, при температуре от -80 до -60°C , при комнатной температуре, от -20 до 40°C или при температуре кипения с обратным холодильником, при атмосферном давлении или в закрытом сосуде, при необходимости под давлением, и/или в инертной атмосфере, например, в атмосфере аргона или азота.

На всех стадиях реакций образующиеся смеси изомеров можно разделить на отдельные изомеры, например, диастереоизомеры или энантиомеры, или на любые желательные смеси изомеров, например, рацематы или смеси диастереоизомеров.

Растворители, из которых могут быть выбраны растворители, подходящие для любой конкретной реакции, включают те, которые конкретно указаны, или, например, воду, сложные эфиры, такие как низший алкил-низшие алканоаты, например, этилацетат, простые эфиры, такие как алифатические простые эфиры, например, диэтиловый эфир, или циклические простые эфиры, например, тетрагидрофуран или диоксан, жидкие ароматические углеводороды, такие как бензол или толуол, спирты, такие как метанол, этанол или 1- или 2-пропанол, нитрилы, такие как ацетонитрил, галогенированные углеводороды такие как метилхлорид или хлороформ, амиды кислот, такие как диметилформамид или диметилацетамид, основания, такие как гетероциклические азотистые основания, например, пиридин или N-метилпирролидин-2-он, ангидриды карбоновых кислот, такие как ангидриды низших алкановых кислот, например, уксусный ангидрид, циклические, линейные или разветвленные углеводороды, такие как циклогексан, гексан или изопентан, метилциклогексан, или смеси таких растворителей, например, водные растворы, если только в описании способов не указано иное. Такие смеси растворителей также можно использовать при обработке, например, методом хроматографии или разделения.

Соединения по настоящему изобретению, включая их соли, также могут быть получены в форме гидратов, или их кристаллы могут, например, включать растворитель, используемый для кристаллизации. Могут присутствовать различные кристаллические формы.

Все исходные вещества, структурные блоки, реагенты, кислоты, основания, дегидратирующие агенты, растворители и катализаторы, используемые для синтеза соединений по настоящему изобретению,

либо коммерчески доступны, либо могут быть получены способами органического синтеза, известными специалистам в данной области техники.

Кроме того, соединения по настоящему изобретению, включая их соли, также можно получить в форме их гидратов, или они могут включать другие растворители, используемые для их кристаллизации. Соединения по настоящему изобретению могут, благодаря присущим им или специально заданным свойствам, образовывать сольваты с фармацевтически приемлемыми растворителями (включая воду); поэтому предполагается, что изобретение охватывает как сольватированные, так и несольватированные формы.

В контексте настоящей заявки термины "соль" или "соли" относятся к кислотно-аддитивной или основно-аддитивной соли соединения по настоящему изобретению. "Соли" включают, в частности, "фармацевтически приемлемые соли". Термин "фармацевтически приемлемые соли" относится к солям, которые сохраняют биологическую эффективность и свойства соединений по настоящему изобретению и которые, как правило, не являются биологически или иным образом нежелательными. Во многих случаях соединения по настоящему изобретению способны образовывать кислотные и/или основные соли благодаря присутствию amino и/или сульфатных групп или подобных групп.

Фармацевтически приемлемые кислотно-аддитивные или обменные соли могут быть образованы с неорганическими кислотами и органическими кислотами, например, такие соли, как ацетат, аспарат, бензоат, безилат, бромид/гидробромид, бикарбонат/карбонат, бисульфат/сульфат, камфорсульфонат, хлорид/гидрохлорид, хлортеофиллонат, цитрат, этандисульфат, фумарат, глицерат, глюконат, глюкуронат, гиппурат, гидроиодид/йодид, изетионат, лактат, лактобионат, лаурилсульфат, малат, малеат, малонат, манделат, мезилат, метилсульфат, нафтоат, напсилат, никотинат, нитрат, октадеканоат, олеат, оксалат, пальмитат, памоат, фосфат/гидрофосфат/дигидрофосфат, полигалактуронат, пропионат, стеарат, сукцинат, сульфосалицилат, тартрат, тозилат и трифторацетат.

Неорганические кислоты или "анионные группы", которые могут быть введены или из которых могут быть образованы соли, включают, например, хлористоводородную кислоту, бромистоводородную кислоту, серную кислоту, азотную кислоту, фосфорную кислоту и т.п.

Органические кислоты или "анионные группы", которые могут быть введены или из которых могут быть образованы соли, включают, например, уксусную кислоту, пропионовую кислоту, гликолевую кислоту, щавелевую кислоту, малеиновую кислоту, малоновую кислоту, янтарную кислоту, фумаровую кислоту, винную кислоту, лимонную кислоту, бензойную кислоту, миндальную кислоту, метансульфоновую кислоту, этансульфоновую кислоту, толуолсульфоновую кислоту, сульфосалициловую кислоту и т.п. Фармацевтически приемлемые сновно-аддитивные или обменные соли могут быть образованы с неорганическими и органическими основаниями.

Неорганические основания или "катионные группы", которые могут быть введены или из которых могут быть образованы соли, включают, например, аммониевые соли и металлы групп I-XII периодической таблицы. В некоторых вариантах осуществления соли образованы из катионных групп натрия, калия, аммония, кальция, магния, железа, серебра, цинка и меди; особенно подходящие соли включают соли аммония, калия, натрия, кальция и магния.

Органические основания или "катионные группы", которые могут быть введены или из которых могут быть образованы соли, включают, например, первичные, вторичные и третичные амины, замещенные амины, включая природные замещенные амины, циклические амины, основные ионообменные смолы и т.п. Некоторые органические амины включают изопропиламин, бензатин, холинат, диэтиламин, диэтиламин, лизин, меглумин, пиперазин и трометамин.

Соли по настоящему изобретению можно синтезировать из основного или кислотного фрагмента обычными химическими методами. Как правило, такие соли можно получить путем взаимодействия форм свободной кислоты этих соединений со стехиометрическим количеством соответствующего основания (такого как гидроксид, карбонат, бикарбонат Na, Ca, Mg или K или т.п.) или путем взаимодействия форм свободного основания этих соединений со стехиометрическим количеством соответствующей кислоты. Предпочтительно соль соединения по изобретению, такую как аммониевая соль, можно подвергнуть взаимодействию с ионообменной смолой в форме, содержащей щелочной или щелочно-земельный металл, для промотирования противоионного обмена. Кислотно-аддитивные или обменные соли соединений по настоящему изобретению получают обычным способом, например путем обработки соединений кислотой или подходящим анионообменным реагентом. Цвиттер-ионы или внутренние соли соединений по настоящему изобретению, содержащих кислотные и основные солеобразующие группы, например свободную сульфатную группу и свободную аминогруппу, можно получить, например, путем нейтрализации солей, таких как кислотно-аддитивные соли, до изоэлектрической точки, например, с использованием слабых оснований, или путем обработки ионообменными веществами. Такие реакции обычно осуществляют в воде или в органическом растворителе, или в смеси таких двух типов растворителей. Обычно желательно использование неводных сред, таких как простой эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил, где это практически осуществимо. Дополнительные подходящие соли можно найти, например, в "Remington's Pharmaceutical Sciences", 20th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); и в "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use" by Stahl and Wer-

muth (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002).

Любая формула, представленная в настоящей заявке, также предназначена для представления немеченных форм, а также изотопно-меченных форм соединений по настоящему изобретению. Изотопно-меченные соединения имеют структуры, показанные формулами, представленными в настоящей заявке, за исключением того, что один или более атомов замещены атомом, имеющим выбранную атомную массу или массовое число. Примеры изотопов, которые могут быть включены в соединения по изобретению, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, фтора и хлора, такие как ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{125}I соответственно. Изобретение включает различные меченные изотопами соединения по настоящему изобретению, например, в которых присутствуют радиоактивные изотопы, такие как ^3H и ^{14}C , или в которых присутствуют нерадиоактивные изотопы, такие как ^2H и ^{13}C . Такие изотопно-меченные соединения полезны в метаболических исследованиях (с ^{14}C), исследованиях кинетики реакции (например, с ^2H или ^3H), методах детекции или визуализации, таких как позитронно-эмиссионная томография (PET) или однофотонная эмиссионная компьютерная томография (SPECT), включая анализы распределения лекарственного средства или тканей субстрата, или при радиоактивном лечении пациентов. В частности, ^{18}F -меченное соединение по настоящему изобретению может быть особенно желательным для PET или SPECT исследований. Изотопно-меченные соединения по настоящему изобретению, как правило, можно получить обычными способами, известными специалистам в данной области техники, или способами, аналогичными тем, которые описаны в прилагаемых примерах и получениях, с использованием подходящего изотопно-меченного реагента вместо немеченого реагента, используемого ранее.

Кроме того, замещение более тяжелыми изотопами, в частности дейтерием (то есть ^2H или D), может дать определенные терапевтические преимущества, обусловленные большей метаболической стабильностью, например увеличение времени полужизни *in vivo* или пониженные требования к дозировке или улучшение терапевтического индекса. Должно быть понятно, что дейтерий в этом контексте рассматривается как заместитель соединения по настоящему изобретению. Концентрация такого более тяжелого изотопа, в частности дейтерия, может определяться коэффициентом изотопного обогащения. В контексте настоящей заявки термин "коэффициент изотопного обогащения" означает соотношение между изотопным содержанием и естественным содержанием указанного изотопа. Если заместитель в соединении по настоящему изобретению указан как дейтерий, такое соединение имеет коэффициент изотопного обогащения для каждого обозначенного атома дейтерия по меньшей мере 3500 (включение дейтерия на каждом указанном атоме дейтерия 52,5%), по меньшей мере 4000 (включение дейтерия 60%), по меньшей мере 4500 (включение дейтерия 67,5%), по меньшей мере 5000 (включение дейтерия 75%), по меньшей мере 5500 (включение дейтерия 82,5%), по меньшей мере 6000 (включение дейтерия 90%), по меньшей мере 6333,3 (включение дейтерия 95%), по меньшей мере 6466,7 (включение дейтерия 97%), по меньшей мере 6600 (включение дейтерия 99%) или по меньшей мере 6633,3 (включение дейтерия 99,5%).

Фармацевтически приемлемые сольваты в соответствии с изобретением включают такие, в которых растворитель кристаллизации может быть изотопно замещенным, например D_2O , d_6 -ацетон, d_6 -DMSO.

Соединения по настоящему изобретению, которые содержат группы, способные действовать как доноры и/или как акцепторы для водородных связей, могут быть способны образовывать сокристаллы с подходящими образователями сокристаллов. Эти сокристаллы могут быть получены из соединений по настоящему изобретению с использованием известных процедур образования сокристаллов. Такие процедуры включают измельчение, нагревание, совместную сублимацию, совместный расплав или контактирование в растворе соединений по настоящему изобретению с образователем сокристаллов в условиях кристаллизации и выделение образовавшихся таким образом сокристаллов. Подходящие образователи сокристаллов включают такие, которые описаны в WO 2004/078163. Следовательно, изобретение дополнительно относится к сокристаллам, содержащим соединение по настоящему изобретению.

Все способы, описанные в настоящей заявке, можно осуществлять в любом подходящем порядке, если не указано иное или если это явно не противоречит контексту. Использование любых возможных примеров или относящихся к иллюстрации фраз (например, "такой как"), представленных в настоящей заявке, предназначено просто для лучшего освещения изобретения и не ограничивает объем изобретения, заявленный иным образом.

Настоящее изобретение обеспечивает новые соединения, фармацевтические композиции, содержащие такие соединения, и способы лечения грамотрицательных бактериальных инфекций. В частности, соединения являются подходящими для применения для лечения инфекций, вызываемых бактериями *Burkholderia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Bacteroides*, *Campylobacter*, *Neisseria* или *Stenotrophomonas*, включая виды, описанные в настоящей заявке.

Замещение более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий, то есть ^2H , может дать определенные терапевтические преимущества, обусловленные большей метаболической стабильностью, например, увеличение времени полужизни *in vivo* или пониженные требования к дозировке, и, следовательно, может быть предпочтительным в некоторых обстоятельствах. Например, замещение дейтерием по необмениваемым углеводородным связям (например, C-H) может замедлять эпимеризацию и/или метаболиче-

ское окисление *in vivo*.

Изотопно-меченные соединения по изобретению, то есть соединения формулы (А), как правило, можно получить обычными способами, известными специалистам в данной области техники, или способами, аналогичными тем, которые описаны в разделах Примеры и Получения, с использованием подходящего меченного изотопом реагента вместо ранее используемого немеченного реагента.

Еще в одном аспекте изобретение обеспечивает способ лечения субъекта с бактериальной инфекцией, включающий стадию введения субъекту, нуждающемуся в этом, антибактериально эффективного количества соединения по изобретению, например соединения формулы (А) или его соли с фармацевтически приемлемым носителем, в комбинации с бета-лактамым антибиотиком. Подходящие бета-лактамы антибиотики для применения в этих способах включают, но не ограничиваются этим, пенициллины, такие как пенициллин G, пенициллин V, метициллин, оксациллин, флоксациллин, диклоксациллин, нафциллин, ампициллин, амоксициллин, карбенициллин, тикарциллин, мезлоциллин, пиперациллин, азлоциллин, темоциллин, цефалоспорины, такие как цефалотин, цефепим, цефтриаксон, цефоперазон, цефтазидим, цефиксим, цефподоксим, цефтибутен, цефдинир, цефпиром, цефепим, цефтолозан; карбапенемы, такие как дорипенем, имипенем, меропенем, панипенем, биापенем; и монобактамы, такие как азтреонам и бета-лактамы 5, который раскрыт в настоящей заявке.

"Эффективное количество" соединения по изобретению представляет собой количество, которое существенно потенцирует активность бета-лактамого антибиотика, используемого в комбинации с соединением по изобретению, такое как количество, при котором антибиотик по меньшей мере в четыре раза более активен в отношении бактерии-мишени, т.е. количество, которое снижает минимальную ингибирующую концентрацию (или "MIC") в отношении бактерии-мишени по меньшей мере 4-кратно, и предпочтительно по меньшей мере 8-кратно.

"Эффективное количество" комбинации BLI плюс бета-лактамы антибиотик, которая используется в настоящем изобретении, относится к количеству, эффективному для лечения бактериальной инфекции у субъекта, типично человека. Эффективное количество зависит от чувствительности инфицирующей бактерии к выбранному антибиотику и от степени потенцирования, обеспечиваемого BLI, используемым в комбинации. Специалист в данной области может определить эффективное количество таких комбинаций на основе параметров субъекта, подлежащего лечению, инфицирующей бактерии и комбинации, которую нужно использовать, что может включать определение MIC для конкретной комбинации в отношении целевой бактерии. Как правило, бактерия, в связи с которой требуется лечение, является резистентной, по меньшей мере, к некоторым бета-лактамым антибиотикам, поскольку бактерия проявляет бета-лактамазную активность.

Соединения по изобретению также полезны для лечения пациентов, страдающих кожными инфекциями, пневмонией, сепсисом, муковисцидозом, имеющих раны, осложненную диабетическую стопу, осложнения внутрибрюшных инфекций или осложненные инфекции мочевыводящих путей и заболвания, передаваемые половым путем, вызванные грамотрицательными или грамположительными патогенами. Соединения по изобретению также полезны при состояниях, которые вызываются видом *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bacteroides*, *Burkholderia*, *Campylobacter*, *Neisseria* или *Stenotrophomonas*. В частности, бактериальная инфекция, вызываемая видом *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Pseudomonas* или *Acinetobacter*, лечится способами, описанными в настоящей заявке. Конкретные бактериальные виды для такого лечения включают *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter faecalis*, *Enterobacter faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, виды *Salmonella*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*, а также *Bacteroides fragilis*, *Burkholderia cepacia*, *Campylobacter jejuni*, *Neisseria gonorrhoeae* и *Stenotrophomonas maltophilia*.

Под термином "комбинация" подразумевается либо фиксированная комбинация в одной стандартной лекарственной форме, либо набор или инструкции для комбинированного введения, где соединение по настоящему изобретению и используемый с ним в комбинации бета-лактамы антибиотик можно вводить отдельно или вместе, в одно и то же время или по отдельности в пределах временных интервалов, которые, в частности, позволяют партнерам по комбинации демонстрировать совместный, например, синергический эффект, или с использованием любой комбинации таких способов введения.

Под "в комбинации с" не подразумевается, что терапия или терапевтические средства следует вводить одновременно и/или формулировать для доставки вместе, хотя эти способы доставки входят в объем, описанный в настоящей заявке. Терапевтические средства в комбинации можно вводить в любом порядке. Как правило, каждое средство следует вводить при соблюдении дозы и/или времени введения, установленных для этого средства. Также должно быть понятно, что терапевтические средства, используемые в этой комбинации, можно вводить вместе в одной композиции или вводить отдельно в разных композициях. В общем случае, как ожидается, каждое из терапевтических средств, используемых в комбинации, должно использоваться на уровнях, которые не превышают уровни, на которых они использу-

ются индивидуально. В некоторых вариантах осуществления уровни, используемые в комбинации, будут ниже, чем при использовании индивидуально.

Фраза "эффективное количество" соединения означает количество, необходимое или достаточное для повышения эффективности бета-лактаманного антибиотика, используемого для лечения или профилактики бактериальной инфекции и/или заболевания или состояния, описанного в настоящей заявке. В одном примере эффективное количество соединения представляет собой количество, достаточное для лечения бактериальной инфекции у субъекта, когда его вводят вместе с бета-лактамом. В другом примере эффективное количество соединения представляет собой количество, достаточное для лечения, при введении в комбинации с бета-лактаманым антибиотиком, бактериальной инфекции у субъекта, вызываемой, но не ограничиваясь этим, видами *Enterobacteriaceae* и т.п. Эффективное количество может варьироваться в зависимости от таких факторов, как размер и масса тела субъекта, тип заболевания, характеристики бактериального патогена, вызывающего заболевание (например, тип и уровень продукции бета-лактамазы) или конкретного соединения по изобретению, а также от бета-лактаманного антибиотика, который нужно использовать вместе с соединением по изобретению. Например, выбор соединения по изобретению может повлиять на то, что составляет "эффективное количество". Специалист в данной области техники сможет рассмотреть факторы, указанные выше, и определить эффективное количество соединений по изобретению без излишнего экспериментирования.

Схема введения может влиять на то, что составляет эффективное количество. Соединение по изобретению можно вводить субъекту либо до, либо после начала проявления бактериальной инфекции. Как правило, соединение вводят субъекту, у которого диагностирована бактериальная инфекция и который нуждается в лечении. Кроме того, несколько отдельных доз, а также вводимых через определенные промежутки времени доз можно вводить через каждые 6 ч, каждые 8 ч, каждые 12 ч или ежедневно или последовательно, или дозу можно вводить путем непрерывной инфузии или при помощи болюсной инъекции. Кроме того, дозировки соединения(соединений) по настоящему изобретению можно пропорционально увеличивать или уменьшать в зависимости от терапевтической или профилактической ситуации. Как правило, соединение по изобретению вводят в течение по меньшей мере 5 дней, чаще в течение по меньшей мере 7 дней, или по меньшей мере 10 дней, или по меньшей мере 14 дней, посредством 3 или 4 инфузий в день (каждые 6 или 8 ч).

Соединения по настоящему изобретению можно использовать для лечения состояний, расстройств или заболеваний, описанных в настоящей заявке, или для получения фармацевтических композиций для применения в лечении этих заболеваний. Изобретение обеспечивает способы применения соединений по настоящему изобретению для лечения этих заболеваний или фармацевтические препараты, содержащие соединения по настоящему изобретению, для лечения этих заболеваний.

Фраза "фармацевтическая композиция" включает препараты, подходящие для введения млекопитающим, например, человеку. Когда соединения по настоящему изобретению вводят в виде лекарственных средств млекопитающим, например, человеку, их можно вводить *per se* или в виде фармацевтической композиции, содержащей, например, 0,1-99,5% (более предпочтительно 0,5-90%) активного ингредиента в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем.

Фраза "фармацевтически приемлемый носитель" является общепринятой в данной области и включает фармацевтически приемлемое вещество, композицию или носитель, подходящий для введения соединений по настоящему изобретению млекопитающим. Носители включают жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, эксципиент, растворитель или инкапсулирующее вещество, участвующие в переносе или транспортировке рассматриваемого средства из одного органа или части тела в другой орган или часть тела. Каждый носитель должен быть "приемлемым" в том смысле, что он должен быть совместимым с другими ингредиентами композиции и не быть вредным для пациента. Некоторые примеры веществ, которые могут служить в качестве фармацевтически приемлемых носителей, включают: сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; целлюлозу и ее производные, такие как натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; порошкообразный трагакант; солод; желатин; тальк; эксципиенты, такие как масло какао и воски для суппозитория; масла, такие как арахисовое масло, масло семян хлопчатника, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; гликоли, такие как пропиленгликоль; полиолы, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; агар; буферные агенты, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; альгиновую кислоту; апирогенную воду; изотонический солевой раствор; раствор Рингера; этиловый спирт; фосфатные буферные растворы; и другие нетоксичные совместимые вещества, используемые в фармацевтических композициях. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемый носитель стерилизуют перед объединением с соединением по изобретению.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция по изобретению включает соединение любого из пронумерованных вариантов осуществления и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция по изобретению включает соединение любого из пронумерованных вариантов осуществления и по меньшей мере два фармацевтически приемлемых носителя или эксципиента.

Также в композициях могут присутствовать смачивающие вещества, эмульгаторы и смазывающие вещества, такие как лаурилсульфат натрия и стеарат магния, а также консерванты и антиоксиданты.

Примеры фармацевтически приемлемых антиоксидантов включают: водорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, цистеин гидрохлорид, бисульфат натрия, метабисульфит натрия, сульфит натрия и т.п.; маслорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбилпальмитат, бутилированный гидроксанизол (ВНА), бутилированный гидрокситолуол (ВНТ), лецитин, пропиленгаллат, α -токоферол и т.п.; и металлохелатирующие агенты, такие как лимонная кислота, этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA), сорбит, винная кислота, фосфорная кислота и т.п.

Композиции по настоящему изобретению включают композиции, подходящие для перорального, назального, ингаляционного, местного, чрескожного, буккального, сублингвального, ректального, вагинального и/или парентерального введения. Как правило, соединения по изобретению вводят внутривенно в форме раствора, который часто является изотоническим, такого как физиологический раствор или раствор глюкозы. Композиции могут быть удобно представлены в стандартной лекарственной форме и могут быть получены любыми способами, хорошо известными в фармацевтике. Количество активного ингредиента, которое можно объединить с материалом носителя для получения единичной дозированной формы, как правило, должно быть таким количеством соединения, которое дает терапевтический эффект. Как правило, из ста процентов это количество будет находиться в диапазоне от около 1 до около 99% активного ингредиента, предпочтительно от около 5 до около 70%, наиболее предпочтительно от около 10 до около 30%.

Способы получения этих препаратов или композиций включают стадию объединения соединения по настоящему изобретению с носителем и, необязательно, одним или более дополнительными ингредиентами. Как правило, композиции получают путем приведения соединения по настоящему изобретению в однородную и тесную ассоциацию с жидкими носителями.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению, подходящие для парентерального введения, включают одно или более соединений по изобретению в сочетании с одним или более фармацевтически приемлемыми стерильными изотоническими водными или неводными растворами, дисперсиями, суспензиями или эмульсиями или стерильными порошками, которые могут быть преобразованы в стерильные растворы или дисперсии для инъекций непосредственно перед применением, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостаты, растворенные вещества, которые делают композицию изотонической с кровью предполагаемого реципиента, или суспендирующие агенты или загустители.

Примеры подходящих водных и неводных носителей, которые можно использовать в фармацевтических композициях по изобретению, включают воду, этанол, полиолы (такие как глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и т.п.) и их подходящие смеси, растительные масла, такие как оливковое масло, и подходящие для инъекций органические сложные эфиры, такие как этилолеат. Подходящую текучесть можно поддерживать, например, путем использования материалов для покрытий, таких как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсий и путем использования поверхностно-активных веществ.

Эти композиции могут также содержать адьюванты, такие как консерванты, смачивающие агенты, эмульгаторы и диспергирующие агенты. Предотвращение действия микроорганизмов можно обеспечить путем включения различных антибактериальных и противогрибковых агентов, например парабена, хлорбутанола, фенолсорбиновой кислоты и т.п. Также может быть желательным включение в композиции изотонических агентов, таких как сахара, хлорид натрия и т.п. Кроме того, пролонгированную абсорбцию инъекционной фармацевтической формы можно получить путем включения агентов, которые замедляют абсорбцию, таких как моностеарат алюминия и желатин.

Инъекционные депо-формы получают путем образования микроинкапсулирующих матриц соединений по изобретению в биоразлагаемых полимерах, таких как полилактид-полигликолид. В зависимости от соотношения лекарственного средства и полимера и природы конкретного используемого полимера можно контролировать скорость высвобождения лекарственного средства. Примеры других биоразлагаемых полимеров включают поли(ортоэфиры) и поли(ангидриды). Инъекционные депо-препараты также получают путем включения лекарственного средства в липосомы или микроэмульсии, которые совместимы с тканями организма.

Препараты по настоящему изобретению можно вводить перорально, парентерально, местно или ректально. Их, конечно, вводят в формах, подходящих для каждого пути введения. Например, их вводят в форме таблеток или капсул, путем инъекции, ингаляции, в виде глазной примочки, мази, суппозитория и т.д. путем инъекции, инфузии или ингаляции; местно в форме лосьона или мази и ректально при помощи суппозитория. Внутривенное введение является предпочтительным.

В контексте настоящей заявки фразы "парентеральное введение" и "вводимый парентерально" означают способы введения, отличные от энтерального и местного введения, обычно путем инъекции, и включают, без ограничения, внутривенные, внутримышечные, внутриартериальные, интратекальные, интракапсулярные, интраорбитальные, внутрисердечные, внутрикожные, внутрибрюшинные, транстрахеальные, подкожные, субкутикулярные, интраартикулярные, субкапсулярные, субарахноидальные, ин-

траспинальные и интрастернальные инъекции и инфузии.

В контексте настоящей заявки фразы "системное введение", "вводимый системно", "периферическое введение" и "вводимый периферически" означают введение соединения, лекарственного средства или другого вещества, отличное от непосредственного введения в центральную нервную систему, так, чтобы оно попадало в систему пациента и, таким образом, подвергалось метаболизму и другим подобным процессам, например подкожное введение.

Эти соединения можно вводить людям и другим животным для лечения любым подходящим путем введения, включая введение путем внутримышечной инъекции, перорально, назально, путем ингаляции, например в форме спрея, ректально, интравагинально, парентерально, интрацестернально и местно, например, в форме порошков, мазей или капель, включая буккальный и сублингвальный путь введения. В некоторых вариантах осуществления соединение по изобретению вводят путем инъекции или инфузии, часто путем инфузии, и его можно вводить совместно с бета-лактамым антибиотиком. Бета-лактамы антибиотик можно вводить любым подходящим путем; в некоторых вариантах осуществления бета-лактамы антибиотик вводят перорально, а в других вариантах осуществления бета-лактамы антибиотик вводят при помощи инъекции или инфузии. Когда соединение по изобретению вводят совместно с бета-лактамым антибиотиком и оба вводят одним и тем же путем, их необязательно можно смешивать для введения при помощи инъекции или инфузии, или их можно вводить отдельно, при условии, что ингибитор бета-лактамазы присутствует системно в организме принимающего лечение субъекта вместе с бета-лактамым антибиотиком, чтобы могло происходить потенцирование.

Независимо от выбранного пути введения соединения по настоящему изобретению, которые можно использовать в подходящей гидратированной форме, и/или фармацевтические композиции по настоящему изобретению, формулируют в фармацевтически приемлемые лекарственные формы обычными способами, известными специалистам в данной области.

Фактические уровни доз активных ингредиентов в фармацевтических композициях по настоящему изобретению можно варьировать таким образом, чтобы получить количество активного ингредиента, которое эффективно для достижения желаемого терапевтического ответа для конкретного пациента, композиции и способа введения, не являясь при этом токсичным для пациента.

Выборный уровень доз будет зависеть от множества факторов, включая активность конкретного используемого соединения по настоящему изобретению или его соли, путь введения, время введения, скорость экскреции конкретного используемого соединения, продолжительность лечения, другие лекарственные средства, соединения и/или вещества, используемые в комбинации с конкретным используемым соединением, возраст, пол, массу тела, состояние, общее состояние здоровья и предыдущую историю болезни пациента, которого лечат, род, вид и штамм бактериального патогена, вызывающего инфекцию, и подобные факторы, хорошо известные в медицине.

Как правило, подходящей суточной дозой соединения по изобретению будет такое количество соединения, которое является дозой, эффективной для получения терапевтического эффекта. Такая эффективная доза обычно зависит от факторов, описанных выше. Как правило, внутривенные и подкожные дозы соединений по настоящему изобретению для пациента при использовании в комбинации с бета-лактамом для указанных антибактериальных эффектов будут находиться в диапазоне от около 2 до около 100 мг на килограмм массы тела в день, более предпочтительно от около 5 до около 100 мг на кг в день и еще более предпочтительно от около 10 до около 50 мг на кг в день. Эффективное количество означает количество, которое лечит бактериальную инфекцию при введении в комбинации с бета-лактамым антибиотиком.

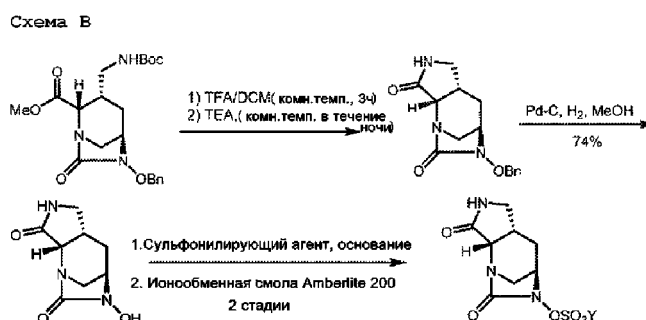
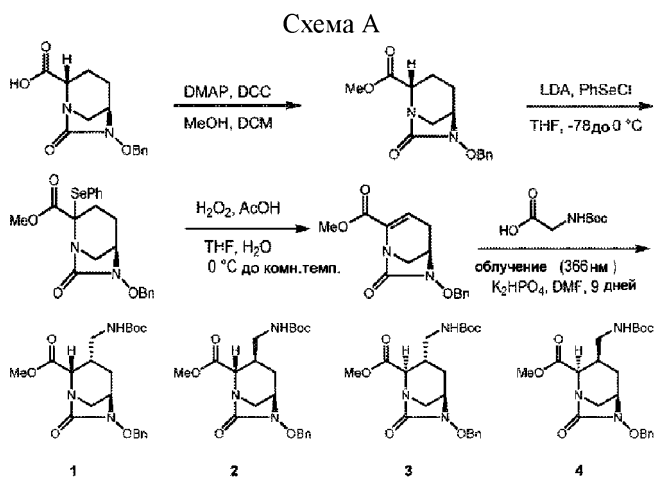
Если желательно, эффективную суточную дозу активного соединения можно вводить в виде двух, трех, четырех, пяти, шести или более субдоз, вводимых отдельно с соответствующими интервалами в течение дня, необязательно в единичных дозированных формах, или в виде непрерывной инфузии.

Хотя соединение по настоящему изобретению можно вводить отдельно, предпочтительно введение соединения в виде фармацевтической композиции.

Соединения, определенные в вариантах осуществления, можно синтезировать с использованием обычных путей синтеза, показанных ниже, конкретные примеры которых описаны более подробно в примерах.

Общие схемы синтеза

Один способ синтеза соединений формулы (I) показан на следующих схемах реакций. Схема А иллюстрирует функционализацию известного диазабициклооктанового скелета в защищенной форме для введения аминоалкильной группы, как описано в рабочих примерах. Схема В иллюстрирует образование конденсированного лактамного кольца, что также проиллюстрировано примерами. Схема С иллюстрирует, как лактам может быть легко N-алкилирован для введения необязательно замещенной алкильной группы.



Примеры сульфонирующих агентов включают, но не ограничиваются этим, комплекс триоксида серы с пиридином и т.п.

Примеры оснований включают, но не ограничиваются этим, пиридин и т.п.

Примеры

Изобретение далее иллюстрируется следующими примерами, которые не должны рассматриваться как ограничивающие. Анализы, используемые в примерах, являются общепринятыми. Демонстрация эффективности в этих анализах является предиктором эффективности у субъектов.

Общие условия

Масс-спектры получали на системах ЖХ-МС, СКФХ-МС или ГХ-МС с использованием методов электрораспыления, химической и ударной электронной ионизации и ряда устройств, имеющих следующую конфигурацию: система Waters ACQUITY UPLC, оснащенная ZQ 2000 или SQD MS системой, где (M+1) относится к протонированному молекулярному иону химического соединения, (M+) относится к непротонированному четвертичному аммониевому катиону, и (M-1) относится к депротонированному молекулярному иону химического соединения.

Спектры ЯМР получали на ЯМР-спектрометрах Bruker BioSpin 600 МГц, Bruker AVANCE 500 МГц или Varian 400 МГц с использованием ICON-NMR под контролем программы TopSpin. Спектры измеряли при 298К, если не указано иное, и их соотносили с резонансом растворителя.

Контрольно-измерительная аппаратура

МС методы:

Метод 2m_кислотный:

Колонка: Kinetex C18 50×2,1 мм, 2,6 мкм

Температура колонки: 50°C

Элюенты: А: H₂O, В: ацетонитрил, оба содержат 0,1% TFA

Скорость потока: 1,2 мл/мин

Градиент: 2% до 88% В в течение 1,30 мин, 0,15 мин 95% В

Метод 2m_кислотный_полярный:

Колонка: Kinetex C18 50×2,1 мм, 2,6 мкм

Температура колонки: 50°C

Элюенты: А: H₂O, В: ацетонитрил, оба содержат 0,1% TFA

Скорость потока: 1,2 мл/мин

Градиент: 1% до 30% В в течение 1,30 мин, 0,15 мин 98% В

Метод ТЗ_3m_полярный:

Колонка: ТЗ C18 50×2,1 мм, 2,6 мкм

Температура колонки: 50°C

Элюенты: А: H₂O, В: ацетонитрил, оба содержат 0,1% TFA

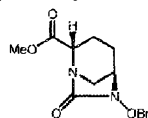
Скорость потока: 1,2 мл/мин
 Градиент: 100% А в течение 1,1 мин, 30% В в течение 1,20 мин, 95% В в течение 0,7 мин
 Метод ЖХМС_2 МИН_МОНИТОРИНГ_РЕАКЦИЙ:
 Колонка: Acquity UPLC HSS T3 50×2,1 мм, 1,8 мкм
 Температура колонки: 60°C
 Элюенты: А: Н₂О, В: ацетонитрил, оба содержат 0,05% TFA
 Скорость потока: 1,0 мл/мин
 Градиент: 5% до 98% В в течение 1,4 мин
 УФ-детекция: ТАС (210-450 нм)
 Метод ЖХМС_2 МИН_КОНЕЧНЫЙ_АНАЛИЗ:
 Колонка: Acquity UPLC HSS T3 50×2,1 мм, 1,8 мкм
 Температура колонки: 60°C
 Элюенты: А: Н₂О (0,05% FA+3,75 mM AA, В: ацетонитрил (0,04% FA)
 Скорость потока: 1,0 мл/мин
 Градиент: 5% до 98% В в течение 1,4 мин
 УФ-детекция: ТАС (210-450 нм)
 Метод ЖХМС_2_мин_Полярный:
 Колонка: Acquity UPLC HSS T3 50×2,1 мм, 1,8 мкм
 Температура колонки: 60°C
 Элюенты: А: Н₂О (0,05% FA+3,75 mM AA, В: ацетонитрил (0,04% FA)
 Скорость потока: 1,0 мл/мин
 Градиент: изогнутый от 1% до 98% В в течение 1,4 мин
 УФ-детекция: ТАС (210-450 нм)
 Метод ВЭЖХ_ХИРАЛЬНАЯ:
 Колонка: Chiralpak IC КК025 250×4,6 мм, 5 мкм
 Температура колонки: комнатная температура
 Элюенты: гептан/EtOH/диэтиламин 92:8:0,05
 Скорость потока: 1,0 мл/мин
 УФ-детекция: 220 нм

Аббревиатуры:

AA	ацетат аммония
ACN	ацетонитрил
каж.	кажущийся
АТФ	Аденозин-5'-трифосфат
VINAP	рацемический 2,2'-бис(дифенилфосфино)-1,1'-бинафтил
Вос	третичный бутилкарбокси
ушир.	уширенный
ушир.с	уширенный синглет
BSA	бычий сывороточный альбумин
д	дублет
дд	дублет дублетов
DCC	дициклогексилкарбодимид

DCE	1, 2-дихлорэтан
DCM	дихлорметан
DIAD	диизопропилазодикарбоксилат
DIPEA	диизопропилэтиламин
DMAP	4-(<i>N,N</i> -диметиламино) пиридин
DME	1, 4-диметоксиэтан
DMF	<i>N,N</i> -диметилформамид
DMSO	диметилсульфоксид
EDTA	этилендиамин тетрауксусная кислота
ESI	электрораспылительная ионизация
EtOAc	этилацетат
FA	муравьиная кислота
г	грамм
ч	час (часы)
HATU	1-[бис(диметиламино)метиле]н-1 <i>H</i> -1, 2, 3- триазоло[4, 5- <i>b</i>]пиридиний 3-оксид гексафторфосфат
HBTU	1-[бис(диметиламино)метиле]н-1 <i>H</i> -бензотриазолий гексафторфосфат(1-) 3-оксид
HCl	хлористоводородная кислота
HOBT	1-гидроксибензотриазол
ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография
ЖХМС	жидкостная хроматография и масс-спектрометрия
LDA	диизопропиламид лития
MeOH	метанол
МС	масс-спектрометрия
м	мультиплет
мг	миллиграмм
MIC	минимальная ингибирующая концентрация
мин	минуты
мл	миллилитр
ммоль	миллимоль
m/z	отношение массы к заряду
ЯМР	ядерный магнитный резонанс
o/n	в течение ночи
п	пентет
PdCl ₂ (dppf) -	комплекс 1, 1'-бис(дифенилфосфино) ферроцен-
CH ₂ Cl ₂	палладий(II) дихлорида•дихлорметан
м.д.	миллионные доли
PuBOP	бензотриазол-1-илокситрипирролидинофосфоний гексафторфосфат
кв.	квартет
рац.	рацемический
rbf	круглодонная колба
rt	комнатная температура
R _t	время удерживания
с	синглет
т	триплет
TBME	метил-трет-бутиловый эфир
TFA	трифторуксусная кислота
TFAA	ангидрид трифторуксусной кислоты
THF	тетрагидрофуран
Tris·HCl	аминотрис(гидроксиэтил)метан гидрохлорид

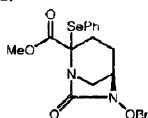
Получение промежуточных соединений



Промежуточное соединение А: Метил-(2S,5R)-6-(бензилокси)-7-оксо-1,6-дизабицикло[3.2.1]октан-2-карбоксилат.

К раствору (2S,5R)-6-(бензилокси)-7-оксо-1,6-дизабицикло[3.2.1]октан-2-карбоновой кислоты (5,0 г, 18,1 ммоль), MeOH (880 мл, 21,7 ммоль) и DMAP (44 мг, 0,36 ммоль) в DCM (50 мл) при 0°C добавляли DCC (3,92 г, 19,0 ммоль). По прошествии 2 ч при комнатной температуре смесь разбавляли при помощи DCM и промывали водой, затем насыщенным солевым раствором. Водные слои экстрагировали при помощи DCM (2×) и объединенные органические слои сушили над Na₂SO₄, фильтровали, затем концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток растирали в порошок с диэтиловым эфиром, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный фильтрат очищали хроматографией на силикагеле с получением указанного в заголовке соединения (4,3 г, 82%). ЖХМС R_t=0,87 мин, m/z=291,3 (M+1),

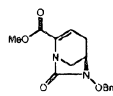
Метод 2 МИН_МОНИТОРИНГ_РЕАКЦИИ.



Промежуточное соединение В: Метил-(5R)-6-(бензилокси)-7-оксо-2-(фенилселанил)-1,6-дизабицикло[3.2.1]октан-2-карбоксилат.

К раствору диизопропиламина (29,6 мл, 210 ммоль) в THF (800 мл) при -70°C добавляли н-бутиллитий (1,6 М в гексане, 108 мл, 172 ммоль) по каплям в течение 10 минут. После перемешивания в течение 50 минут при -73°C добавляли по каплям раствор метил-(2S,5R)-6-(бензилокси)-7-оксо-1,6-дизабицикло[3.2.1]октан-2-карбоксилата (43,5 г, 150 ммоль) в THF (350 мл) в течение 45 мин. После перемешивания при -78°C в течение 1,5 ч добавляли по каплям фенилселенилхлорид (57,4 г, 300 ммоль) в THF (260 мл) в течение 45 мин. После перемешивания при -78°C в течение 45 мин смеси давали нагреться до -10°C в течение 60 мин и перемешивали еще в течение одного часа, после этого смесь охлаждали -30°C и реакцию гасили при помощи HCl (2 М, 50 мл) с последующим добавлением метанола (250 мл). Смеси давали нагреться до комнатной температуры в течение 15 мин, затем разбавляли при помощи ТВМЕ (1 л) и промывали насыщенным солевым раствором: водой (2:1, 2 л). Фазы разделяли и органическую фазу промывали насыщенным солевым раствором (2 л). Водные слои экстрагировали при помощи ТВМЕ (2×500 мл). Объединенные органические фазы сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле с получением указанного в заголовке соединения (23,70 г, 36%, 3:1 смесь диастереомеров) в виде коричневого масла. ЖХМС R_t=1,12/1,16 мин, m/z=447,3 (M+1), Метод 2 МИН_МОНИТОРИНГ_РЕАКЦИИ;

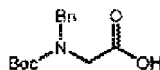
¹H ЯМР (600 МГц, CDCl₃, основной диастереомер) δ 7,59 (д, J=7,9 Гц, 2H), 7,42-7,30 (м, 8H), 5,00 (д, J=11,5 Гц, 1H), 4,88 (д, J=11,5 Гц, 1H), 4,15 (д, J=11,7 Гц, 1H), 3,68 (с, 3H), 3,35 (с, 1H), 3,18 (д, J=11,8 Гц, 1H), 2,44 (дд, J=17,4, 11,8, 6,6 Гц, 1H), 2,07-2,01 (м, 1H), 1,91 (дд, J=16,6, 5,8 Гц, 1H), 1,72 (тд, J=12,9, 6,0 Гц, 1H).



Промежуточное соединение С: Метил-(5R)-6-(бензилокси)-7-оксо-1,6-дизабицикло[3.2.1]окт-2-ен-2-карбоксилат.

К раствору Промежуточного соединения В в THF:воде (20:1, 22 мл) при 0°C добавляли H₂O₂ (30% водн., 0,8 мл, 7,83 ммоль) и AcOH (0,55 мл, 9,61 ммоль). После перемешивания в течение 1 ч при 0°C смесь разбавляли при помощи EtOAc и добавляли сульфит калия (5% водн.). После разрушения всех пероксидов (KJ-stärke-тест) фазы разделяли, и органический слой промывали насыщенным солевым раствором. Водные слои экстрагировали при помощи EtOAc и объединенные органические слои промывали NaHCO₃ (5% водн.), насыщенным солевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле с получением указанного в заголовке соединения (419 мг, 81%). ЖХМС: R_t=0,88 мин, m/z=288,1 (M+1), Метод 2_МИН_КОНЕЧНЫЙ_АНАЛИЗ.

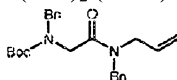
¹H ЯМР (600 МГц, DMSO-d₆) δ 7,45-7,41 (м, 2H), 7,40-7,33 (м, 3H), 6,88-6,86 (м, 1H), 4,89 (с, 2H), 3,96 (ушир.с, 1H), 3,67 (с, 3H), 3,35-3,28 (м, 1H), 2,82 (д, J=11,0 Гц, 1H), 2,58-2,52 (м, 1H), 2,38 (с, 1H), 2,34 (с, 1H).



Промежуточное соединение D: N-бензил-N-(трет-бутоксикарбонил)глицин

К суспензии N-бензилглицина (24,3 г, 147 ммоль) в THF:воде (1:1, 500 мл) добавляли Вос-ангидрид (33,7 г, 154 ммоль). Через 6,5 ч смесь разбавляли при помощи ТВМЕ (250 мл) и добавляли лимонную кислоту (33 г) до pH=4. После перемешивания в течение 10 мин фазы разделяли и органическую фазу промывали насыщенным соевым раствором (250 мл). Водный слой промывали при помощи ТВМЕ (2×100 мл) и объединенные органические фазы сушили над Na₂SO₄, фильтровали и затем концентрировали в вакууме (45°C), с получением указанного в заголовке соединения (40,70 г) в виде бесцветного масла, которое начинало кристаллизоваться при выстаивании. ВЭЖХ: 99,7% на основании УФ, ЖХМС: R_t=0,94 мин, m/z=264,3 (M-H), Метод ЖХМС_2_МИН_КОНЕЧНЫЙ_АНАЛИЗ.

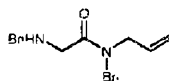
¹H ЯМР (600 МГц, DMSO-d₆)* δ 12,62 (ушир.с, 1H), 7,44-7,09 (м, 5H), 4,41 (д, J=8,1 Гц, 2H) 1,44-1,24 (м, 9H) 3,89-3,67 (м, 2H). *В виде смеси с O(Вос)₂ (~ 9%).



Промежуточное соединение E: трет-Бутил (2-(аллил (бензил)амино)-2-оксоэтил) (бензил)карбамат.

1500 мл 4-горлую реакционную колбу с механической мешалкой, внутренним термометром, холодильником и входным отверстием для азота загружали промежуточным соединением D (31,6 г, 107 ммоль) с последующим добавлением EtOAc (500 мл). Реакционную смесь охлаждали на ледяной бане (4°C) с последующим добавлением N-аллилбензиламина (16,44 г, 107 ммоль) и пропилфосфинового ангидрида (ТЗР, 136 г, 214 ммоль, 50% в этилацетате). К смеси добавляли триэтиламин (90 мл, 643 ммоль) по каплям в течение 5 мин. Коричневый раствор перемешивали в течение 20 мин при комнатной температуре затем выливали в перемешиваемую смесь льда и воды (500 мл). Фазы разделяли и органическую фазу промывали последовательно HCl (0,5 N, 500 мл), насыщенным раствором NaHCO₃ (500 мл) и насыщенным соевым раствором (500 мл). Исходный водный слой экстрагировали при помощи EtOAc (2×250 мл) и объединенные органические слои сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме при (45°C) с получением указанного в заголовке соединения (43,94 г) в виде коричневого масла. ЖХМС: R_t=1,31, мин m/z=395,5 (M+1), метод ЖХМС_2_МИН_КОНЕЧНЫЙ_АНАЛИЗ.

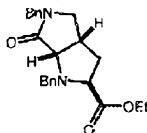
¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,53-6,99 (м, 10H), 5,94-5,55 (м, 1H), 5,24-4,97 (м, 2H) 4,55-4,25 (м, 4H), 4,16-3,68 (м, 4H), 1,42-1,28 (м, 9H).



Промежуточное соединение F: N-аллил-N-бензил-2-(бензиламино)ацетамид.

В 750-мл 4-горлую реакционную колбу, снабженную механической мешалкой, внутренним термометром, холодильником и входным отверстием для азота, загружали промежуточное соединение E (43,9 г, 108 ммоль) в DCM (400 мл). К раствору добавляли TFA (83 мл, 1,079 моль). После перемешивания в течение ночи желтый раствор медленно выливали (быстрое выделение газа) в перемешиваемую смесь насыщенного раствора NaHCO₃ (воды., 1,5 л) и льда (1 кг). После перемешивания в течение 10 мин фазы разделяли и органическую фазу промывали 1/2 насыщенным раствором NaHCO₃ (воды., 0,5 л), затем насыщенным соевым раствором (0,5 л). Водный слой экстрагировали при помощи DCM (0,5 л) и объединенные органические слои сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме (45°C) с получением указанного в заголовке соединения (31,30 г) в виде коричневого масла. ЖХМС: R_t=0,71 мин m/z=295,3 (M+1), метод ЖХМС_2_МИН_КОНЕЧНЫЙ_АНАЛИЗ.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.д. 7,49-7,04 (м, 10H), 5,90-5,55 (м, 1H), 5,19-4,92 (м, 2H), 4,64-4,37 (м, 2H), 3,98-3,76 (м, 2H), 3,73-3,61 (м, 2H), 3,44-3,32 (м, 2H), 2,44-2,28 (м, 1H).



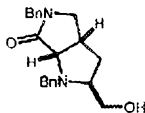
Промежуточное соединение G: рац. Этил-(2S*,3aS*,6aS*)-1,5-добензил-6-оксооктагидропирроло[3,4-b]пиррол-2-карбоксилат.

В инертизированный азотом 60-л реактор Buechi CR60, снабженный термостатом Huber 390W, Flexu ALR с автоматическим контролем температуры, контролем дозирования и входным отверстием для азота, добавляли раствор промежуточного соединения F (1,460 кг, 4,81 моль) в толуоле (20 л), сульфат магния (2,32 кг, 19,24 моль) и триэтиламин (0,872 л, 6,25 моль). Бледно-желтую суспензию нагревали до температуры кипения с обратным холодильником в течение 1 ч. К кипящей смеси добавляли этилглиоксидат (50% в толуоле, 1,179 кг, 5,77 моль) в течение 15 ч через дозирующий насос. После перемешивания еще в течение 6 ч при кипячении с обратным холодильником желтую суспензию охлаждали до 15°C (внутренняя темп.), сразу после этого добавляли воду (20 л) (экзотермическая реакция). После перемешивания в течение 15 мин смесь переносили в 80-л разделительный сосуд и фазы разделяли.

Органический слой экстрагировали последовательно водой (15 л), затем насыщенным соевым рас-

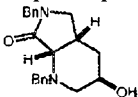
твором (15 л). Водный слой промывали при помощи ТВМЕ (2×10 л). Вторую ТВМЕ промывку фильтровали через целит (содержала нерастворимое вещество), элюируя при помощи ТВМЕ.

Объединенные органические фазы частично концентрировали в вакууме (45°C) до объема 6 л, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме (50°C). Это вещество снова сушили в течение ночи (50°C, 10 мбар) с получением указанного в заголовке соединения (1,970 кг) в виде коричневого масла, которое представляло собой 5,2:1 смесь диастереомеров. ЖХМС: $R_t=1,21$ мин (67,1% а) $m/z=379,3$ (M+1); (12,9% а) при $R_t=1,16$ мин $m/z=379,3$ (M+1), метод ЖХМС_2_МИН_КОНЕЧНЫЙ_АНАЛИЗ.



Промежуточное соединение H: рац. (2S*,3aS*,6aS*)-1,5-дибензил-2-(гидроксиметил)гексагидропирроло-[3,4-b]пиррол-6(1H)-он.

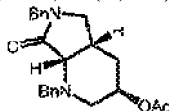
К раствору Промежуточного соединения G (1,967 кг, 5,847 моль) в THF (20 л) при 0°C в инертизированный азотом 30-л реактор Buchi CR30, снабженный термостатом Huber 1015W, Flexu ALR, томатыческим контролем температуры и входным отверстием для азота, добавляли борогидрид лития (0,238 кг, 10,39 моль) по порциям в течение 10 мин (небольшая экзотерма). Через 5 дней при комнатной температуре вводили дополнительное количество борогидрида лития (0,025 кг, 1,143 моль). Еще через 5 дней при комнатной температуре добавляли борогидрид лития (0,017 кг, 0,780 моль). Еще через 6 дней смесь охлаждали до -10°C, сразу после этого добавляли HCl (2N, 8 л) по каплям через дозировочный насос в течение 2 ч, приводя к pH=3 (осторожно: очень сильное газо- и пенообразование!). После интенсивного перемешивания образовывалась желтая суспензия, которую перемешивали в течение 30 мин при 0°C. Добавляли насыщенный раствор NaHCO_3 (воды, 10 л) и смесь переносили в 80-л разделительный сосуд и экстрагировали при помощи ТВМЕ (20 л) при добавлении воды (8 л), которая способствовала фазовому разделению. Органическую фазу промывали насыщенным соевым раствором (2×10 л) и водный слой экстрагировали при помощи ТВМЕ (2×7 л). Объединенные органические слои концентрировали в вакууме (45°C) до объема 8 л, затем сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме (50°C). Остаток растворяли в толуоле (3 л), концентрировали в вакууме и сушили в течение 3 ч (50°C, 10 мбар) с получением указанного в заголовке соединения (1,630 кг) в виде желтого-коричневого масла, которое представляло собой 10,5:1 смесь диастереомеров. ЖХМС: $R_t=0,77$ мин* $m/z=337,3$ (M+1), метод ЖХМС_2_МИН_КОНЕЧНЫЙ_АНАЛИЗ. *Основной диастереомер.



Промежуточное соединение I: рац. (3R*,4aS*,7aS*)-1,6-дибензил-3-гидроксиоктагидро-7H-пирроло[3,4-b]пиридин-7-он

К суспензии промежуточного соединения H (1,627 кг, 4,836 моль), молекулярных сит (4Å, 2,5 кг) и THF (23 л) в инертизированный азотом 30-л с тройным кожухом Amsi Glas реактор, снабженный автоматическим контролем температуры, Unistat 390W, обратным холодильником и входным отверстием для азота, при -5°C добавляли TFAA (0,820 л, 5,81 моль) по каплям в течение 35 мин. После перемешивания в течение 15 мин при 0°C добавляли триэтиламин (3,37 л, 24,18 моль) в течение 10 мин, сразу после этого смесь нагревали до температуры кипения с обратным холодильником (внутренняя температура 68°C) в течение 6 дней, достигая равновесного отношения продукта к исходному веществу 9:1. Смесь переносили в 80-л разделительный сосуд, содержащий охлажденный льдом NaOH (1M, 24 л) и перемешивали в течение 15 мин. К коричневой суспензии добавляли целит (3 кг), перемешивали в течение 15 мин, затем фильтровали через слой целита, промывая при помощи ТВМЕ. Фильтрат экстрагировали при помощи ТВМЕ (20 л). Органическую фазу промывали насыщенным раствором NaHCO_3 (воды, 10 л), затем насыщенным соевым раствором (1×15 л). Водные слои экстрагировали при помощи ТВМЕ (2×7 л) и объединенные органические слои концентрировали в вакууме (45°C) до объема 8 л и сушили над Na_2SO_4 (2 кг). Суспензию фильтровали через силикагель (1 кг, 40-63 мкм), промывая при помощи EtOAc (4×2 л). Элюент концентрировали в вакууме (45°C) и сушили в течение 3 ч (50°C, 15 мбар) с получением указанного в заголовке соединения (1,366 кг) в виде темно-коричневого масла. ЖХМС: $R_t=0,84$ мин, $m/z=337,3$ (M+1), метод ЖХМС_2_МИН_КОНЕЧНЫЙ_АНАЛИЗ.

^1H ЯМР (600 МГц, DMSO-d_6) δ 7,40-7,15 (м, 10H), 4,69-4,57 (м, 1H), 4,65-4,56 (м, 1H), 4,43 (д, J=13,8 Гц, 1H), 4,29-4,21 (м, 1H), 3,62-3,49 (м, 1H), 3,46-3,39 (м, 1H), 3,18 (д, J=8,3 Гц, 2H), 2,86 (д, J=5,7 Гц, 1H), 2,70 (дд, J=10,7, 2,7 Гц, 1H), 2,66-2,56 (м, 1H), 1,83-1,67 (м, 2H), 1,39-1,29 (м, 1H).



Промежуточное соединение J: (3R,4aS,7aS)-1,6-дибензил-7-оксооктагидро-1H-пирроло[3,4-b]пиридин-3-илацетат

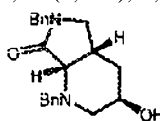
Суспензию промежуточного соединения I (1,364 кг, 3,04 моль), винилацетат (4,20 л, 45,6 моль), липазу QLM (*Alcaligenes* sp от Meito Sanguo, активность: 101400 Ед/г, 25 г, 3,04 моль) и ТВМЕ (21 л) в инертизированном азотом 30-л реакторе с тройным кожухом с автоматическим контролем температуры, Unistat 390W, холодильником и входным отверстием для азота перемешивали при 30°C (внутренняя темп.) в течение 6 дней. Смесь охлаждали до 20°C и фильтровали через huflо (500 г). Фильтрат концентрировали в вакууме (35°C) до объема 3 л, сразу после этого добавляли толуол (1 л), затем снова концентрировали в вакууме (35°C, затем при 50°C). Неочищенный продукт растворяли в ТВМЕ:гептане (2:1, 3 л) и очищали несколькими порциями хроматографией на силикагеле (гептан-EtOAc-метанол) с получением указанного в заголовке соединения (626 г) в виде коричневого масла.

ЖХМС: $R_t=1,16$ мин, $m/z=379,3$ (M+1), Метод ЖХМС_2_МИН_КОНЕЧНЫЙ_АНАЛИЗ.

ВЭЖХ: $R_t=33,45$ мин, 98,2% эи (второстепенный энантиомер: $R_t=23,92$ мин)

метод ВЭЖХ_ХИРАЛЬНАЯ.

^1H ЯМР (600 МГц, DMSO- d_6) δ м.д. 7,41-7,22 (м, 10H), 4,74-4,65 (м, 1H) 4,56-4,51 (м, 1H), 4,36-4,26 (м, 2H), 3,75 (д, J=14,3 Гц, 1H) 3,30-3,21 (м, 2H) 3,00 (дд, J=9,5, 5,9 Гц, 1H), 2,75-2,68 (м, 1H), 2,62 (секстет, J=6,2 Гц, 1H), 2,23 (дд, J=11,6, 7,2 Гц, 1H), 1,97 (с, 3H), 1,66 (т, J=6,05 Гц, 2H).



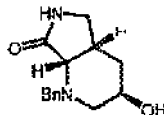
Промежуточное соединение K: (3R,4aS,7aS)-1,6-дибензил-3-гидроксиоктагидро-7H-пирроло[3,4-b]-пиридин-7-он.

Смесь промежуточного соединения J (616 г, 1221 ммоль), THF (4 л) и NaOH (2N, 3,97 л, 7,94 моль) в 20-л круглодонной колбе роторного испарителя Büchi интенсивно перемешивали в течение 18 ч при 25°C и 6 ч при 40°C, после этого смесь охлаждали 25°C с последующим добавлением MeOH (2л) и затем перемешивали в течение ночи. Смесь экстрагировали при помощи ТВМЕ (6 л) и органическую фазу промывали насыщенным солевым раствором (4 л). Водный слой экстрагировали при помощи ТВМЕ (3×3 л) и объединенные органические фазы концентрировали в вакууме (45°C) до объема 5 л, затем сушили над безводным сульфатом натрия (1 кг), фильтровали и концентрировали в вакууме (45°C). Остаток растворяли в толуоле (3 л) и снова концентрировали, затем сушили в течение 2 ч (60°C, 20 мбар) с получением указанного в заголовке соединения (555 г) в виде коричневого масла.

ЖХМС: $R_t=0,84$ мин, $m/z=337,3$ (M+1),

Метод ЖХМС_2_МИН_КОНЕЧНЫЙ_АНАЛИЗ.

^1H ЯМР (600 МГц, DMSO- d_6) δ 7,58-7,04 (м, 10H), 4,66-4,5 (м, 2H), 4,43 (д, J=13,9 Гц, 1H), 4,25 (д, J=15,2 Гц, 1H), 3,54 (ткв., J=9,3, 4,5 Гц, 1H), 3,47-3,39 (м, 1H), 3,18 (д, J=8,3 Гц, 2H), 2,85 (д, J=5, 9 Гц, 1H), 2,70 (дд, J=11,0, 2,8 Гц, 1H), 2,64-2,57 (м, 1H), 1,78-1,67 (м, 2H), 1,27-1,39 (м, 1H).



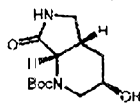
Промежуточное соединение L: (3R,4aS,7aS)-1-бензил-3-гидроксиоктагидро-7H-пирроло[3,4-b]-пиридин-7-он.

В 30-л реактор Büchi CR30, снабженный термостатом Huber 1015, Flexu ALR с автоматическим контролем температуры, входным отверстием для аргона и аммиака, который инертизировали аргоном, предварительно охлаждали до -80°C, заполняли жидким аммиаком (безводный, 10,0 кг, 587 моль), при этом выходное отверстие было соединено с газовым скруббером, заполненным серной кислотой (30%, 100 л), добавляли раствор промежуточного соединения K (543 г, 1,614 моль) в THF (1,5 л) с последующим добавлением этанола (безводный, 236 мл, 4,04 моль). К полученному раствору добавляли литий (гранулированный, 44,8 г, 6,46 моль) по порциям в течение 15 мин (температура повышалась от -72 до -63°C). К серой смеси через 1 ч добавляли литий (22,4 г, 3,23 моль) и этанол (безводный, 94 мл, 1,616 моль) при перемешивании при -60°C. Через 1 ч добавляли дополнительное количество лития (11,2 г, 1,615 моль) и этанола (безводный, 47 мл, 0,808 моль). Через 45 мин снова добавляли литий (11,2 г, 1,615 моль). Через 15 ч к темно-синей смеси добавляли этанол (безводный, 94 мл, 1,616 моль). Перемешивание продолжали до тех пор, пока не осталось <5% исходного вещества, и реакцию гасили добавлением хлорида аммония (2,0 кг, 37,4 моль) по порциям в течение 10 мин. Реакционную смесь перемешивали в течение 17 ч при -28°C и в течение ~2 ч при 2°C, что приводило к полному испарению аммиака. К смеси добавляли воду (15 л) и ТВМЕ (8 л) с последующим добавлением HCl (32%) до достижения pH=9-10. Фазы разделяли и органический слой промывали насыщенным солевым раствором (5 л). Водный слой экстрагировали при помощи DCM (3×2 л) и объединенные органические слои концентрировали в вакууме при 45°C до объема 3 л, затем сушили над Na₂SO₄ (1 кг), фильтровали и концентрировали в вакууме (45°C, затем 2 ч при 65°C, 20 мбар), с по-

лучением указанного в заголовке соединения (373 г) в виде коричневого масла.

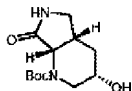
ЖХМС: $R_t=0,75$, $m/z=247,2$ (M+H), Метод ЖХМС_2_МИН_ПОЛЯРНЫЙ.

^1H ЯМР (600 МГц, DMSO- d_6) δ 7,78 (с, 1H), 7,34-7,24 (м, 4H), 7,27-7,16 (м, 1H), 4,65-4,60 (м, 1H), 4,32 (д, $J=13,9$ Гц, 1H), 3,64-3,54 (м, 1H), 3,44 (д, $J=13,9$ Гц, 1H), 3,13 (д, $J=8,1$ Гц, 2H), 2,69 (дд, $J=10,82$, 2,75 Гц, 1H), 2,66-2,62 (м, 1H), 2,60-2,54 (м, 1H), 1,80-1,69 (м, 2H), 1,41-1,30 (м, 1H).



Промежуточное соединение М: трет-бутил-(3R,4aS,7aS)-3-гидрокси-7-оксооктагидро-1H-пирроло-[3,4-b]пиридин-1-карбоксилат. К раствору Промежуточного соединения L (372,0 г, 1,51 моль) и Вос-ангидрида (346 г, 1,59 моль) в THF (4,0 л) добавляли Pd-C 10% (15 г). Смесь встряхивали в аппарате для встряхивания при 22-25°C и давлении H_2 0,1 бар в течение 89 ч. После 57% абсорбции водорода добавляли еще одну порцию Pd-C 10% (15 г). Смесь фильтровали через целит, промывали при помощи THF и концентрировали в вакууме с получением неочищенного продукта (545 г) в виде бледно-коричневого твердого вещества. Остаток суспендировали в EtOAc (1 л) и перемешивали в течение 1 ч при 75°C. К суспензии добавляли гептан (1,5 л) медленно при 75°C. После перемешивания в течение 2 ч при комнатной температуре продукт собирали фильтрованием, твердое вещество промывали гептаном, затем сушили в вакууме (45°C) с получением указанного в заголовке соединения (278,5 г) в виде белых кристаллов. ЖХМС: $R_t=0,86$ мин, $m/z=257,3$ (M+1), Метод ЖХМС_2_МИН_ПОЛЯРНЫЙ.

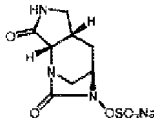
^1H ЯМР (600 МГц, DMSO- d_6) δ 7,83-7,65 (м, 1H), 4,80-4,49 (м, 2H), 3,93-3,67 (м, 2H), 3,43-3,37 (м, 1H), 2,72 (ушир.д, $J=9,5$ Гц, 1H), 2,60 (ушир.д, $J=12,5$ Гц, 1H), 2,48-2,39 (м, 1H), 1,82-1,70 (м, 1H), 1,40 (ушир.д, $J=6,8$ Гц, 9H) 1,36-1,27 (м, 1H).



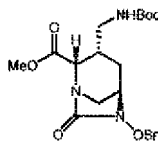
Промежуточное соединение N: трет-бутил-(3S,4aS,7aS)-3-гидрокси-7-оксооктагидро-1H-пирроло-[3,4-b]пиридин-1-карбоксилат.

К раствору Промежуточного соединения М (270 г, 948 ммоль) в THF (13 л) в инертизированном азотом 20-л с тройным кожухом реакторе (Amsi Glas) с автоматическим контролем температуры, Unistat 390W, холодильником и входным отверстием для азота при -5°C (внутренняя темп.) добавляли 4-нитробензойную кислоту (323 г, 1,90 моль) и трифенилфосфин (524 г, 1,90 моль). К полученному раствору добавляли раствор DIAD (359 мл, 1,85 моль) в THF (1,3 л) по каплям в течение 30 мин, поддерживая при этом внутреннюю температуру от -4 до -10°C. Смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи, затем концентрировали в вакууме (45°C) с получением неочищенного вещества (1,64 кг, сырая масса) в виде коричневого масла. К раствору маслянистого остатка в MeOH (15 л) добавляли K_2CO_3 (393 г, 2,844 моль). После перемешивания в течение 1 ч суспензию концентрировали в вакууме (40°C) с получением оранжевого твердого вещества, к которому добавляли DCM (6 л). Через 30 мин суспензию фильтровали, промывая при помощи DCM, и фильтрат концентрировали в вакууме (45°C). Остаток суспендировали в DCM:MeOH (97:3,4 л) и перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре. Суспензию фильтровали, промывая при помощи DCM и фильтрат концентрировали в вакууме (45°C) до объема 3 л очищали двумя порциями хроматографией на силикагеле с получением продукта (189 г) в виде твердого вещества. К этому веществу, растворенному в DCM:MeOH (95:5, 5 л), при 45°C медленно добавляли гептан (5 л). Раствор частично концентрировали (45°C), удаляя некоторое количество DCM, вызывая кристаллизацию продукта через 15 мин. Через 1 ч при комнатной температуре твердое вещество собирали фильтрованием, промывали гептаном и сушили в вакууме (45°C) до получения постоянной массы, с получением указанного в заголовке соединения (167,7 г) в виде кристаллов. ЖХМС: $R_t=0,95$ мин, $m/z=257,3$ (M+1), Метод ЖХМС_2_МИН_ПОЛЯРНЫЙ.

^1H ЯМР (600 МГц, DMSO- d_6)* δ 7,80 (д, $J=20,2$ Гц, 1H), 4,97 (т, $J=4,8$ Гц, 1H), 4,57 (дд, $J=92,2$, 7,0 Гц, 1H), 3,89 (ддд, $J=18,8$, 9,3, 6,5 Гц, 1H), 3,33-3,23 (м, 1H), 2,75 (ддд, $J=9,7$, 4,6, 2,0 Гц, 1H), 2,43 (ддт, $J=16,9$, 11,8, 6,1 Гц, 1H), 2,08 (ддд, $J=86,6$, 12,5, 10,7 Гц, 1H), 1,94 (дд, $J=12,2$, 5,5 Гц, 1H), 1,39 (д, $J=22,6$ Гц, 9H), 1,04 (дкв., $J=15,2$, 12,0 Гц, 1H). *Указаны как наблюдаемые ротамеры.



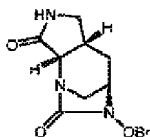
Пример 1. (4R,5aS,8aS)-2,8-диоксогептагидро-2H-1,4-метано-пирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфат натрия.



Стадия 1: Метил-(2S,3S,5R)-6-(бензилокси)-3-(((трет-бутоксикарбонил)амино)метил)-7'-оксо-1,6-дизабцикло[3.2.1]октан-2-карбоксилат.

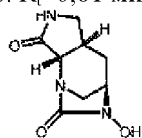
Промежуточное соединение С (0,82 г, 2,84 ммоль), Вос-Gly-ОН (1,00 г, 5,69 ммоль) и Ir[df(CF₃)ppy₂(dtbpy)]PF₆ (32 мг, 0,028 ммоль) растворяли в DMF (20 мл). К раствору добавляли тонкоизмельченный двухосновный фосфат калия (0,59 г, 3,41 ммоль) и полученную суспензию облучали под аргоном (баллон) в 500-мл капельной воронке (закрыта круглодонной колбой снизу и перегородкой сверху) в течение 7 дней с использованием 8W UVA люминесцентной лампы. Колбу помещали горизонтально сверху лампы (воздушное охлаждение) для обеспечения максимального облучения. Через 4 дня добавляли Ir[df(CF₃)ppy₂(dtbpy)]PF₆ (32 мг, 0,028 ммоль).

К смеси добавляли воду (100 мл), затем насыщенный раствор NaHCO₃ (воды., 100 мл) и экстрагировали при помощи ТВМЕ (4×80 мл). Объединенные органические фазы промывали последовательно насыщенным раствором NaHCO₃ (водн., 50 мл), водой (50 мл), затем насыщенным солевым раствором (50 мл). Органический слой сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле (EtOAc-гептан, 15-100%) с получением указанного в заголовке соединения (108 мг, 9%) в виде масла. ЖХМС: R_t=1,04 мин, Метод 2m_кислотный.



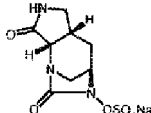
Стадия 2: (4R,5aS,8aS)-3-(бензилокси)гексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дизаепин-2,8(3H)-дион.

К раствору метил-(2S,3S,5R)-6-(бензилокси)-3-(((трет-бутоксикарбонил)амино)метил)-7'-оксо-1,6-дизабцикло[3.2.1]октан-2-карбоксилата (108 мг, 0,26 ммоль) в DCM (3 мл) при комнатной температуре добавляли TFA (1,0 мл, 13 ммоль) по каплям. Смесь оставляли для перемешивания при комнатной температуре в течение 3 ч, сразу после этого смесь концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток растворяли в DCM (3 мл), охлаждали до 0°C и добавляли триэтиламин (0,31 мл, 2,3 ммоль). Через 1 ч снова добавляли триэтиламин (0,11 мл, 0,75 ммоль) и DCM (5 мл). Ледяную баню удаляли и реакцию смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, сразу после этого смесь промывали лимонной кислотой (10 мл, ~20% водн.). Водную фазу экстрагировали при помощи DCM (3×8 мл), и объединенные органические фазы промывали водой (5 мл), насыщенным солевым раствором (2×10 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле (DCM-MeOH, 2-7%) с получением указанного в заголовке соединения (47 мг, 61%) в виде бежевого твердого вещества. ЖХМС: R_t=0,61 мин, m/z=288(M+1), Метод 2m_кислотный.



Стадия 3: (4R,5aS,8aS)-3-гидроксигексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дизаепин-2,8(3H)-дион.

Суспензию (4R,5aS,8aS)-3-(бензилокси)гексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дизаепин-2,8(3H)-диона (80 мг, 0,278 ммоль) и Pd-C (10% Degussa тип 101, 50% воды, 34 мг) в MeOH (1,8 мл) вакуумировали и снова заполняли H₂ (3×). Через 2,5 ч смесь фильтровали через слой целита, промывали при помощи MeOH и концентрировали в вакууме с получением указанного в заголовке соединения (40 мг, 74%). ЖХМС: R_t=0,13 мин, m/z=198,1 (M+1), Метод 2m_кислотный.

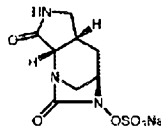


Стадия 4: (4R,5aS,8aS)-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дизаепин-3(4H)-илсульфат натрия.

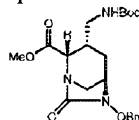
К суспензии неочищенного (4R,5aS,8aS)-3-гидроксигексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дизаепин-2,8(3H)-диона (40,7 мг, 0,206 ммоль) в пиридине (2 мл) при 0°C добавляли комплекс SO₃-Py (335 мг, 2,064 ммоль). После интенсивного перемешивания в течение 19 ч суспензию фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток растворяли в THF:воде (1:1, 6 мл) и добавляли Na-обменную смолу Amberlite 200 (1,5 г). Суспензию перемешивали в течение 2 ч, сразу после этого фильтровали, частично концентрировали в вакууме, замораживали и лиофилизировали. Полученное

твердое вещество подвергали хроматографии на силикагеле (вода-ацетонитрил, 2-5%) с получением указанного в заголовке соединения (12,3 мг, 16%, для 2 стадий) в виде аморфного твердого вещества. ЖХМС: $R_t=0,25$ мин, $m/z=278,0$ (M+1) Метод T3_3m_полярный;

^1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ 4,24-4,18 (м, 2H), 3,52 (дд, $J=10,7, 6,2$ Гц, 1H), 3,33 (д, $J=12,3$ Гц, 1H), 3,10 (д, $J=10,7$ Гц, 1H), 2,95 (д, $J=12,3$ Гц, 1H), 2,81 (р, $J=8,5$ Гц, 1H), 2,54-2,46 (м, 1H), 1,65 (дд, $J=14,7, 9,2$ Гц, 1H).



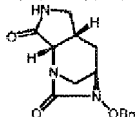
Пример 1. Альтернативная процедура. (4R,5aS,8aS)-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метано-пирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфат натрия.



Стадия 1: (2S,3S,5R)-метил-6-(бензилокси)-3-(((трет-бутоксикарбонил)амино)метил)-7-оксо-1,6-дизабцикло[3.2.1]октан-2-карбоксилат

Перемешиваемую смесь промежуточного соединения С (3 г, 10,41 ммоль), 2-((трет-бутоксикарбонил)амино)уксусной кислоты (2,55 г, 14,57 ммоль), $\text{Ir}[\text{df}(\text{CF}_3)\text{ppy}]_2(\text{dtbpy})\text{PF}_6$ (0,117 г, 0,104 ммоль) и двухосновного фосфата калия (2,72 г, 15,61 ммоль) в DMF (30,6 мл) дегазировали путем барботирования N_2 в течение 15 мин и облучали при помощи Kessil H150-Blue LED (вентиляторное охлаждение) в атмосфере N_2 в течение 92 ч. Добавляли 2-((трет-бутоксикарбонил)амино)уксусную кислоту (2,55 г, 14,57 ммоль), двухосновный фосфат калия (2,72 г, 15,61 ммоль) и $\text{Ir}[\text{df}(\text{CF}_3)\text{ppy}]_2(\text{dtbpy})\text{PF}_6$ (0,117 г, 0,104 ммоль) и смесь облучали при помощи Kessil H150-Blue LED (вентиляторное охлаждение) в атмосфере N_2 еще в течение 20 ч. Смесь разбавляли насыщенным раствором NaHCO_3 (водн.) и экстрагировали при помощи EtOAc (3×). Объединенные органические слои промывали водой, насыщенным соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенное вещество очищали хроматографией на силикагеле (EtOAc -Гептан, 0-100%) с получением указанного в заголовке соединения (352 мг, 8%) в виде желтого пенистого вещества. ЖХ/МС: $R_t=0,87$ мин; $m/z=420,2$ (M+1) Метод 2m_кислотный;

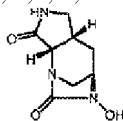
^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 7,46-7,42 (м, 2H), 7,42-7,34 (м, 3H), 6,84 (ушир.с, 1H), 4,93 (д, $J=4,3$ Гц, 2H), 3,88 (д, $J=6,7$ Гц, 1H), 3,76 (ушир.с, 1H), 3,66-3,65 (м, 3H), 3,21 (д, $J=12,0$ Гц, 1H), 3,12-3,03 (м, 1H), 2,86-2,78 (м, 2H), 2,14 (ушир.с, 1H), 2,00-1,93 (м, 1H), 1,51 (т, $J=12,3$ Гц, 1H), 1,34 (с, 9H)



Стадия 2: (4R,5aS,8aS)-3-(бензилокси)гексагидро-2H-1,4-метано-пирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(8aH)-дион.

К раствору (2S,3S,5R)-метил-6-(бензилокси)-3-(((трет-бутоксикарбонил)амино)метил)-7-оксо-1,6-дизабцикло[3.2.1]октан-2-карбоксилата (352 мг, 0,839 ммоль) в DCM (4,19 мл) добавляли TFA (1,61 мл, 20,98 ммоль) по каплям. Через 90 мин смесь концентрировали в вакууме, растворяли в DCM и снова концентрировали (3×). К остатку, растворенному в DCM (5 мл), при 0°C добавляли TEA (1,17 мл, 8,39 ммоль), после этого охлаждающую баню удаляли. Через 20 ч при комнатной температуре смесь разбавляли насыщенным раствором NaHCO_3 (водн.) и экстрагировали при помощи EtOAc (3×). Объединенные органические слои промывали водой, насыщенным соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенное вещество очищали хроматографией на силикагеле (MeOH -DCM, 0-20%), с получением указанного в заголовке соединения (158 мг, 66%, 2-стадии) в виде прозрачной пленки. ЖХ/МС: $R_t=0,65$ мин; $m/z=288,0$ (M+1) Метод 2m_кислотный;

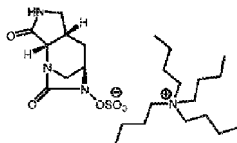
^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 7,99 (с, 1H), 7,48-7,33 (м, 5H), 4,99-4,88 (м, 2H), 3,81 (д, $J=7,8$ Гц, 1H), 3,59 (ушир.с, 1H), 3,32-3,22 (м, 1H), 2,89 (ушир.д, $J=11,9$ Гц, 1H), 2,75 (д, $J=9,8$ Гц, 1H), 2,63 (д, $J=11,9$ Гц, 1H), 2,26-2,17 (м, 1H), 1,38 (ддд, $J=14,3, 9,2, 1,9$ Гц, 1H)



Стадия 3: (4R,5aS,8aS)-3-гидроксигексагидро-2H-1,4-метано-пирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(8aH)-дион.

Суспензию (4R,5aS,8aS)-3-(бензилокси)гексагидро-2H-1,4-метано-пирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(8aH)-диона (158 мг, 0,550 ммоль) и Pd-C (10% Degussa тип 101, 50% воды, 117 мг, 0,055 ммоль) в

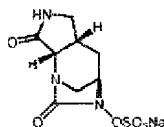
MeOH:DCM (3:1, 3,67 мл) вакуумировали и снова заполняли H_2 . Через 2 ч смесь фильтровали через целит и концентрировали в вакууме (температура бани $< 30^\circ C$) с получением указанного в заголовке соединения (102 мг, 94%) в виде не совсем белого твердого вещества. ЖХ/МС: $R_t=0,12$ мин; $m/z=198,0$ (M+1), Метод 2m_кислотный.



Стадия 4: (4R,5aS,8aS)-2,8-диоксогексагидро-2Н-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4Н)-илсульфат тетрабутиламмония.

К раствору неочищенного (4R,5aS,8aS)-3-гидроксигексагидро-2Н-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(8АН)диона (102 мг, 0,517 ммоль) в пиридине (5,17 мл) добавляли $SO_3 \cdot Py$ (412 мг, 2,59 ммоль). После 19 ч интенсивного перемешивания смесь фильтровали и концентрировали в вакууме (температура бани $< 30^\circ C$). Полученное вещество растворяли в NaH_2PO_4 (1 М, 10 мл), сразу после этого добавляли гидросульфат тетрабутиламмония (263 мг, 0,776 ммоль). После перемешивания в течение 30 мин смесь экстрагировали при помощи IPA: $CHCl_3$ (1:4, 3×). Объединенные органические слои сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме (температура бани $< 30^\circ C$). Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле (MeOH-DCM, 0-30%) с получением указанного в заголовке соединения (180 мг, 67%) в виде белого пенистого вещества. ЖХ/МС: $R_t=0,13$ мин; $m/z=278$ (M+1) Метод 2m_кислотный;

1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 7,97 (с, 1H), 3,98 (ушир.с, 1H), 3,81 (д, $J=7,8$ Гц, 1H), 3,28 (дд, $J=6,1, 9,9$ Гц, 1H), 3,19-3,13 (м, 8H), 2,98 (ушир.д, $J=12,1$ Гц, 1H), 2,78 (д, $J=9,9$ Гц, 1H), 2,65 (д, $J=12,1$ Гц, 1H), 2,49-2,44 (м, 1H), 2,28-2,19 (м, 1H), 1,63-1,51 (м, 8H), 1,40 (ушир. дд, $J=9,3, 12,7$ Гц, 1H), 1,31 (секстет, $J=7,4$ Гц, 8H), 0,93 (т, $J=7,3$ Гц, 12H)



Стадия 5: (4R,5aS,8aS)-2,8-диоксогексагидро-2Н-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4Н)-илсульфат натрия.

DOWEX 50Wx8 водородную форму 200-400 меш кондиционировали путем перемешивания с NaOH (2 N) в течение 3 ч. Смолу загружали в колонку и промывали водой до получения pH ~6. Смесь затем промывали 1:1 водой/ацетоном. (4R,5aS,8aS)-2,8-диоксогексагидро-2Н-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4Н)-илсульфат тетрабутиламмония (180 мг, 0,347 ммоль) растворяли в 1:1 ацетоне/воде и элюировали через смолу с использованием 1:1 ацетона/воды. Образец частично концентрировали в вакууме (температура бани $< 30^\circ C$) и лиофилизировали с получением указанного в заголовке соединения (75 мг, 68%) в виде белого твердого вещества. ЖХ/МС: $R_t=0,25$ мин; $m/z=278,0$ (M+1) Метод Т3_3m_ПОЛЯРНЫЙ;

1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ 4,24-4,18 (м, 2H), 3,51 (дд, $J=10,7, 6,2$ Гц, 1H), 3,33 (ушир.д, $J=12,3$ Гц, 1H), 3,10 (д, $J=10,7$ Гц, 1H), 2,95 (д, $J=12,3$ Гц, 1H), 2,81 (р, $J=8,1$ Гц, 1H), 2,54-2,46 (м, 1H), 1,65 (дд, $J=14,7, 9,2$ Гц, 1H).

Альтернативная процедура стадии 5: (4R,5aS,8aS)-2,8-диоксогексагидро-2Н-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4Н)-ил гидросульфат

К раствору (4R,5aS,8aS)-2,8-диоксогексагидро-2Н-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4Н)-илсульфата тетрабутиламмония (6,9 г, 13,30 ммоль) в изобутаноле (20,8 мл) и воде (1,35 мл) при $40^\circ C$ добавляли раствор 2-этилгексаноата натрия (4,56 г, 26,6 ммоль) в изобутаноле (20,8 мл) и воде (1,35 мл) через шприцевой насос при 8 мл/ч. Смесь перемешивали в течение 1 ч при $40^\circ C$, затем охлаждали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи, сразу после этого смесь фильтровали с использованием воронки Бюхнера и с использованием качественной ватманской фильтровальной бумаги. Фильтровальную лепешку промывали изобутанолом (3×) и затем охлажденным льдом ацетоном (3×). К воронке прилагали вакуум, с потоком N_2 над фильтровальной лепешкой в течение 3 ч, с последующей лиофилизацией в течение 3 дней, с получением указанного в заголовке соединения (3,05 г, 73%) в виде кристаллического белого твердого вещества. ЖХ/МС: $R_t=0,25$ мин; $m/z=278,0$ (M+1) Метод Т3_3m_ПОЛЯРНЫЙ.

1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ = 4,20-4,12 (м, 2H), 3,48 (дд, $J=6,2, 10,7$ Гц, 1H), 3,33-3,25 (м, 1H), 3,05 (д, $J=10,7$ Гц, 1H), 2,90 (д, $J=12,2$ Гц, 1H), 2,82-2,71 (м, 1H), 2,46 (тдд, $J=2,8, 8,7, 14,7$ Гц, 1H), 1,66-1,56 (м, 1H)

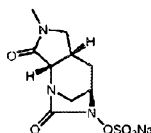
Спектр рентгеновской порошковой дифракции для натриевой соли показан на фиг. 1.

Устройство: Рентгеновский дифрактометр (Bruker, модель D8)

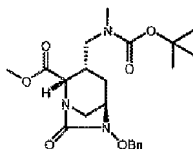
Источник - Cucka

Ширина шага 0,02°
 Напряжение 40 кВ
 Ток 40 мА
 Время на шаг 120 секунд
 Диапазон сканирования 3-39°

Пик	2 θ ета
1	8,31 ± 0,2)
2	11,66 ± 0,2)
3	14,45 ± 0,2)
4	16,63 ± 0,2)
5	17,64 (± 0,2)
6	18,12 ± 0,2)
7	18,64 ± 0,2)
8	19,51 ± 0,2)
9	21,68 ± 0,2)
10	23,54 ± 0,2)
11	24,32 ± 0,2)
12	25,06 (± 0,2)
13	27,37 ± 0,2)
14	27,86 ± 0,2)
15	28,72 ± 0,2)
16	31,33 ± 0,2)
17	32,60 ± 0,2)
18	33,58 ± 0,2)
19	34,43 ± 0,2)
20	35,40 ± 0,2)
21	38,17 (± 0,2)



Пример 2. (4R,5aS,8aS)-7-метил-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфат натрия.

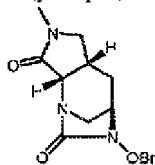


Стадия 1: (2S,3S,5R)метил-6-(бензилокси)-3-(((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)метил)-7-оксо-1,6-дизабицикло[3.2.1]октан-2-карбоксилат.

Перемешиваемую смесь промежуточного соединения С (3 г, 10,41 ммоль), 2-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)уксусной кислоты (2,56 г, 13,53 ммоль), Ir[df(CF₃)ppy]₂(dtbpy)PF₆ (0,117 г, 0,104 ммоль) и двухосновного фосфата калия (2,175 г, 12,49 ммоль) в DMF (30 мл) дегазировали путем барботирования N₂ через суспензию в течение 15 мин и затем оставляли под N₂ и облучали при помощи Kessil H150-Blue LED (вентиляторное охлаждение) в течение 48 ч. Реакционную смесь разбавляли насыщенным раствором NaHCO₃ и экстрагировали при помощи EtOAc (3×). Объединенные органические слои промывали водой, насыщенным солевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенное вещество очищали хроматографией на силикагеле (EtOAc-Гептан, 0-100%) с получением оранжевого пенного вещества (233 мг). Это вещество снова очищали хроматографией на силикагеле (EtOAc-Гептан, 0-70%) с получением указанного в заголовке соединения (140 мг, 3%) в виде желтого твердого вещества. ЖХ/МС: R_t=0,92 мин; m/z=434, 1 (M+1)

Метод 2м_кислотный;

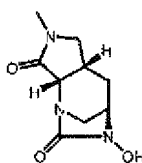
^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 7,46-7,42 (м, 2H), 7,41-7,33 (м, 3H), 4,98-4,91 (м, 2H), 3,88-3,81 (м, 1H), 3,78 (ушир.с, 1H), 3,68 (ушир.с, 3H), 3,26-3,03 (м, 2H), 2,84 (ушир.д, $J=11,6$ Гц, 1H), 2,67 (с, 3H), 1,97-1,88 (м, 1H), 1,62 (ушир.т, $J=12,6$ Гц, 1H), 1,34 (ушир.с, 9H)



Стадия 2: (2S,3S,5R)-метил-6-(бензилокси)-3-((метиламино)метил)-7-оксо-1,6-дизабицикло[3.2.1]октан-2-карбоксилат.

К перемешиваемому раствору (2S,3S,5R)-метил-6-(бензилокси)-3-((трет-бутоксикарбонил)(метиламино)метил)-7-оксо-1,6-дизабицикло[3.2.1]октан-2-карбоксилата (140 мг, 0,323 ммоль) в DCM (1,6 мл) добавляли по каплям TFA (0,622 мл, 8,07 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N_2 . Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 90 мин и затем концентрировали и совместно упаривали с DCM (3 \times). Остаток растворяли в DCM (2 мл) и охлаждали до 0 $^\circ\text{C}$. Добавляли TEA (0,450 мл, 3,23 ммоль), охлаждающую баню удаляли и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 90 мин. Реакционную смесь разбавляли насыщенным раствором NaHCO_3 и экстрагировали при помощи EtOAc (3 \times). Объединенные органические слои промывали водой, насыщенным соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенное вещество очищали хроматографией на силикагеле (MeOH-DCM, 0-20%) с получением указанного в заголовке соединения (86 мг, 88%) в виде прозрачной пленки. ЖХ/МС: $R_t=0,46$ мин; $m/z=301,9$ (M+1) Метод 2м_кислотный;

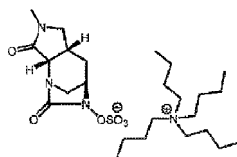
^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 7,50-7,32 (м, 5H), 5,03-4,86 (м, 2H), 3,86 (д, $J=7,9$ Гц, 1H), 3,60 (ушир.с, 1H), 3,39-3,34 (м, 1H), 2,93-2,83 (м, 2H), 2,76 (с, 3H), 2,57 (д, $J=11,9$ Гц, 1H), 2,49-2,42 (м, 1H), 2,32-2,18 (м, 1H), 1,38 (ддд, $J=14,3, 9,0, 1,9$ Гц, 1H)



Стадия 3: (4R,5aS,8aS)-3-гидрокси-7-метилгексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дизаепин-2,8(8aH)дион.

(2S,3S,5R)-метил-6-(бензилокси)-3-((метиламино)метил)-7-оксо-1,6-дизабицикло[3.2.1]октан-2-карбоксилат (143 мг, 0,475 ммоль) растворяли в метаноле (2,4 мл) и добавляли Pd-C (10%, Degussa тип 101, 50% воды, 101 мг, 0,047 ммоль). Смесь вакуумировали под вакуумом и снова заполняли H_2 . После перемешивания в течение 1 ч смесь фильтровали через целит и концентрировали в вакууме (температура бани <30 $^\circ\text{C}$) с получением указанного в заголовке соединения (63 мг, 63%) в виде белого твердого вещества. ЖХ/МС: $R_t=0,11$ мин; $m/z=211,9$ (M+1)

Метод 2м_кислотный.



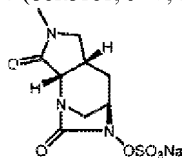
Стадия 4: (4R,5aS,8aS)-7-метил-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дизаепин-3(4H)-илсульфат тетрабутиламмония.

(4R,5aS,8aS)-3-гидрокси-7-метилгексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дизаепин-2,8(8aH)дион (63 мг, 0,298 ммоль) растворяли в пиридине (2,9 мл) и добавляли SO_3 -пиридин (237 мг, 1,49 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 ч. Реакционную смесь фильтровали через одноразовый пластиковый фильтр и концентрировали при пониженном давлении (температура бани < 30 $^\circ\text{C}$). Это вещество растворяли в NaH_2PO_4 (1M, 10 мл) и добавляли гидросульфат тетрабутиламмония (152 мг, 0,447 ммоль). После перемешивания в течение 30 мин при комнатной температуре смесь экстрагировали при помощи EtOAc (4 \times). Объединенные органические слои промывали насыщенным соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме. Водный слой экстрагировали при помощи 20% IPA в CHCl_3 (2 \times), сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме (температура бани < 30 $^\circ\text{C}$). Объединенное органическое вещество очищали хроматографией на силикагеле (MeOH-DCM, 0-30%) с получением указанного в заголовке соединения (62 мг, 39%) в виде прозрачной пленки. ЖХ/МС: $R_t=0,13$ мин; $m/z=291,9$ (M+1)

Метод 2м_кислотный;

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) $\delta=4,34$ (ушир.с, 1H), 4,04 (ушир.д, $J=7,3$ Гц, 1H), 3,44 (дд, $J=10,0, 5,6$ Гц,

1H), 3,34 (ушир.д, J=2,6 Гц, 1H), 3,28 (ушир. дд, J=10,3 Гц, 5,1 Гц, 8H), 2,97-2,91 (м, 4H), 2,80 (д, J=12,0 Гц, 1H), 2,75-2,61 (м, 2H), 1,74-1,60 (м, 9H), 1,44 (секстет, J=7,4 Гц, 8H), 1,00 (т, J=7,3 Гц, 12H).

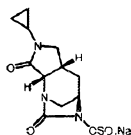


Стадия 5: (4R,5aS,8aS)-7-метил-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфат натрия.

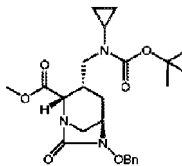
DOWEX 50Wx8 водородную форму 200-400 меш кондиционировали путем перемешивания с NaOH (2 N) в течение 3 ч. Смолу загружали в стеклянную колонку и промывали водой до получения pH ~6. Смесь затем промывали водой:ацетоном (1:1). (4R,5aS,8aS)-7-метил-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфат тетрабутиламмония (62 мг, 0,12 ммоль) растворяли в 1:1 ацетоне:воде и пропускали через колонку с использованием ацетона:воды (1:1). Образец частично концентрировали в вакууме (температура бани < 30°C), затем лиофилизировали с получением указанного в заголовке соединения (32 мг, 83%) в виде белого порошка. ЖХ/МС: R_t=0,48 мин; m/z=291,8 (M+1)

Метод ТЗ_3m_ПОЛЯРНЫЙ;

¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ=4,20-4,15 (м, 2H), 3,60 (дд, J=10,6, 6,4 Гц, 1H), 3,30 (ддд, J=12,3, 4,0, 2,7, 1,3 Гц, 1H), 3,13 (д, J=10,4 Гц, 1H), 2,90 (с, 3H), 2,86 (д, J=12,1 Гц, 1H), 2,77-2,69 (м, 1H), 2,49 (тдд, J=14,8, 8,8, 3,0 Гц, 1H), 1,59 (ддд, J=14,8, 8,9, 2,0 Гц, 1H).



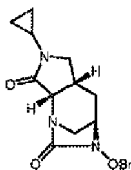
Пример 3. (4R,5aS,8aS)-7-циклопропил-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфат натрия.



Стадия 1: (2S,3S,5R)-метил-6-(бензилокси)-3-(((трет-бутоксикарбонил)(циклопропил)амино)метил)-7-оксо-1,6-дизабидицикло[3.2.1]октан-2-карбоксилат. Перемешиваемую смесь промежуточного соединения С (4 г, 13,87 ммоль), 2-((трет-бутоксикарбонил)(циклопропил)амино)уксусной кислоты (3,88 г, 18,04 ммоль), Ir(df (CF₃)ppu₂(dtbpy)]PF₆ (0,156 г, 0,139 ммоль) и двухосновного фосфата калия (2,90 г, 16,65 ммоль) в DMF (40 мл) дегазировали путем барботирования N₂ в течение 15 мин. Смесь облучали в атмосфере N₂ при помощи Kessil H150-Blue LED (вентиляторное охлаждение) в течение 42 ч, сразу после этого смесь разбавляли насыщенным раствором NaHCO₃, фильтровали и экстрагировали при помощи EtOAc (3×). Объединенные органические слои промывали водой, насыщенным солевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле (EtOAc-Гептан, 0-100%). Это вещество очищали еще 2 раза хроматографией на силикагеле (EtOAc-Гептан 0-100%, затем EtOAc-Гептан 0-70%) с получением указанного в заголовке соединения (190 мг, выход 3%) в виде прозрачной пленки. ЖХ/МС: R_t=0,99 мин; m/z=460,2 (M+1)

Метод 2m_кислотный;

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ=7,45-7,34 (м, 5H), 5,05 (д, J=11,5 Гц, 1H), 4,89 (д, J=11,5 Гц, 1H), 4,09 (д, J=6,5 Гц, 1H), 3,74 (с, 3H), 3,37-3,25 (м, 2H), 3,17-3,07 (м, 1H), 2,92-2,83 (м, 1H), 2,64-2,52 (м, 1H), 2,44-2,35 (м, 1H), 2,09-1,98 (м, 1H), 1,68 (т, J=12,7 Гц, 1H), 1,58-1,52 (м, 1H), 1,44-1,39 (м, 9H), 0,80-0,66 (м, 2H), 0,59-0,46 (м, 2H)

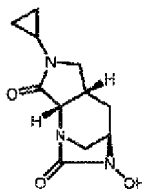


Стадия 2: (4R,5aS,8aS)-3-(бензилокси)-7-циклопропилгексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(8aH)-дион.

К перемешиваемому раствору (2S,3S,5R)-метил-6-(бензилокси)-3-(((трет-бутоксикарбонил)(циклопропил)амино)метил)-7-оксо-1,6-дизабидицикло[3.2.1]октан-2-карбоксилата (190 мг, 0,413 ммоль), растворенного в DCM (4,1 мл), добавляли по каплям TFA (0,796 мл, 10,34 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N₂. Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 90 мин и затем концентрировали в вакууме, разбавляли при помощи DCM и снова концентрировали (3×). Остаток растворя-

ли в DCM (2 мл) и охлаждали до 0°C. Добавляли ТЕА (0,576 мл, 4,13 ммоль) и смесь перемешивали в течение 18 часов при комнатной температуре. Раствор концентрировали при пониженном давлении и неочищенное вещество очищали хроматографией на силикагеле (MeOH-DCM, 0-20%), с получением указанного в заголовке соединения (103 мг, 76%) в виде прозрачной пленки. ЖХ/МС: $R_f=0,69$ мин; $m/z=328,0$ (M+1) Метод 2m_кислотный;

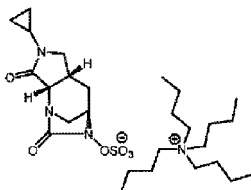
^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) $\delta=7,46-7,42$ (м, 2H), 7,41-7,33 (м, 3H), 4,97-4,89 (м, 2H), 3,87 (д, J=7,8 Гц, 1H), 3,59 (ушир.с, 1H), 3,31-3,27 (м, 1H), 2,91-2,85 (м, 1H), 2,76 (д, J=9,8 Гц, 1H), 2,66 (тт, J=7,5, 4,1 Гц, 1H), 2,56 (д, J=11,9 Гц, 1H), 2,42 (дд, J=8,5, 6,1 Гц, 1H), 2,19 (ддт, J=14,3, 8,5, 3,0 Гц, 1H), 1,31 (ддд, J=14,3, 9,2, 1,9 Гц, 1H), 0,78-0,68 (м, 2H), 0,66-0,55 (м, 2H).



Стадия 3: (4R,5aS,8aS)-7-циклопропил-3-гидроксигексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(8aH)-дион

(4R,5aS,8aS)-3-(бензилокси)-7-циклопропилгексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(8aH)-дион (103 мг, 0,315 ммоль) растворяли в MeOH (3,2 мл) и добавляли Pd-C (10% Degussa тип 101, 50% воды, 67,0 мг, 0,031 ммоль). Смесь дегазировали в вакууме и снова заполняли H_2 . После перемешивания в течение 40 мин смесь фильтровали через целит и концентрировали в вакууме (температура бани < 30°C) с получением указанного в заголовке соединения (75 мг, 100%) в виде белого твердого вещества. ЖХ/МС: $R_f=0,54$ мин; $m/z=238,0$ (M+1)

Метод 2m_кислотный.

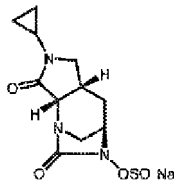


Стадия 4: (4R,5aS,8aS)-7-циклопропил-2,8-диоксигексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфат тетрабутиламмония.

К раствору (4R,5aS,8aS)-7-циклопропил-3-гидроксигексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(8aH)-диона (75 мг, 0,316 ммоль) в пиридине (3,16 мл) добавляли SO_3 -пиридин (151 мг, 0,948 ммоль). После перемешивания в течение 20 ч суспензию фильтровали и концентрировали в вакууме (температура бани < 30°C). Неочищенный остаток растворяли в насыщенном растворе NaH_2PO_4 (10 мл) и промывали при помощи EtOAc. К водному слою добавляли гидросульфат тетрабутиламмония (161 мг, 0,474 ммоль). После перемешивания в течение 45 мин смесь экстрагировали при помощи DCM (4x), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме (температура бани < 30°C). Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле (Ацетон-DCM, 0-100%) с получением 121 мг прозрачной пленки. ЖХ/МС: $R_f=0,14$ мин; $m/z=318,0$ (M+1)

Метод 2m_кислотный;

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) $\delta=3,93$ (ушир.с, 1H), 3,87 (д, J=7,8 Гц, 1H), 3,34-3,29 (м, 1H), 3,19-3,13 (м, 8H), 2,99-2,94 (м, 1H), 2,78 (д, J=9,7 Гц, 1H), 2,68 (тт, J=7,4, 4,2 Гц, 1H), 2,57 (д, J=11,9 Гц, 1H), 2,46-2,36 (м, 1H), 2,26-2,17 (м, 1H), 1,61-1,52 (м, 8H), 1,35-1,26 (м, 9H), 0,93 (т, J=7,3 Гц, 12H), 0,78-0,69 (м, 2H), 0,66-0,57 (м, 2H).



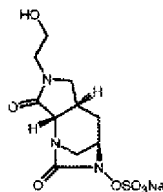
Стадия 5: (4R,5aS,8aS)-7-циклопропил-2,8-диоксигексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфат натрия.

DOWEX 50Wx8 водородную форму 200-400 меш кондиционировали путем перемешивания с NaOH (2 N) в течение 3 ч. Смола загружали в стеклянную колонку и промывали водой (до pH ~6), затем водой:ацетоном (1:1). Раствор (4R,5aS,8aS)-7-циклопропил-2,8-диоксигексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфата тетрабутиламмония (121 мг, 0,217 ммоль) в воде:ацетоне (1:1) загружали и пропускали через колонку, элюируя водой:ацетоном (1:1). Образец концентрировали в вакууме (температура бани < 30°C) и лиофилизировали с получением указанного в заголовке соединения

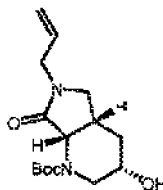
(51 мг, выход 66%) в виде белого порошка. ЖХ/МС: $R_t=0,36$ мин; $m/z=318,0$ (M+1)

Метод 2m_кислотный;

^1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ 4,20-4,14 (м, 2H), 3,55 (дд, $J=10,6, 6,1$ Гц, 1H), 3,32-3,26 (м, 1H), 3,09 (д, $J=10,6$ Гц, 1H), 2,83 (д, $J=12,3$ Гц, 1H), 2,73-2,65 (м, 2H), 2,50-2,42 (м, 1H), 1,51 (дд, $J=14,6, 9,1$ Гц, 1H), 0,90-0,74 (м, 3H), 0,71-0,63 (м, 1H).



Пример 4. (4R,5aS,8aS)-7-(2-гидроксиэтил)-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метано-пирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфат натрия.

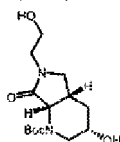


Стадия 1: трет-бутил-(3S,4aS,7aS)-6-аллил-3-гидрокси-7-оксооктагидро-1H-пирроло[3,4-b]пиридин-1-карбоксилат

К раствору трет-бутил-(3S,4aS,7aS)-3-гидрокси-7-оксооктагидро-1H-пирроло[3,4-b]пиридин-1-карбоксилата (1,50 г, 5,62 ммоль) в DMF (56 мл) при 0°C добавляли трет-бутоксид калия (1M в THF, 5,6 мл, 5,6 ммоль). Через 5 мин охлаждающую баню удаляли и смесь оставляли для перемешивания при комнатной температуре в течение 30 мин, затем охлаждали до 0°C , сразу после этого добавляли по каплям аллилбромид (490 мкл, 5,66 ммоль). Охлаждающую баню удаляли через 5 мин и еще через 2 ч при комнатной температуре смесь концентрировали в вакууме и очищали непосредственно хроматографией на силикагеле (этилацетат-гептан, 0-100%) с получением указанного в заголовке соединения (1,688 г, 81%) в виде белого твердого вещества. ЖХ/МС: $R_t=0,70$ мин; $m/z=297,1$ (M+1)

Метод 2m_кислотный;

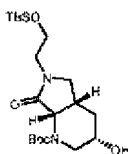
^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6)* $\delta=5,72$ (ддт, $J=16,4, 11,1, 5,9$ Гц, 1H), 5,23-5,15 (м, 2H), 4,96 (с, 1H), 4,77 (д, $J=7,1$ Гц, 0,5H), 4,62 (д, $J=7,1$ Гц, 0,5H), 3,97-3,85 (м, 1,5H), 3,85-3,75 (м, 1H), 3,71 (дд, $J=15,3, 6,3$ Гц, 0,5H), 3,49-3,42 (м, 1H), 2,83-2,77 (м, 1H), 2,50-2,40 (м, 1H), 2,14 (т, $J=11,6$ Гц, 0,5H), 2,03-1,91 (м, 1,5H), 1,42 (с, 4,5H), 1,38 (с, 4,5H) 0,96 (п, $J=12,1$ Гц, 1H). *Указано как смесь ротамеров.



Стадия 2: трет-бутил-(3S,4aS,7aS)-3-гидрокси-6-(2-гидроксиэтил)-7-оксооктагидро-1H-пирроло[3,4-b]пиридин-1-карбоксилат.

Раствор трет-бутил-(3S,4aS,7aS)-6-аллил-3-гидрокси-7-оксооктагидро-1H-пирроло[3,4-b]пиридин-1-карбоксилата (2,72 г, 9,18 ммоль) в DCM (92 мл) при -78°C барботировали при помощи O_3 в течение 30 мин. Смесь затем барботировали при помощи O_2 еще в течение 20 мин при -78°C . К прозрачному раствору добавляли диметилсульфид (6,74 мл, 92 ммоль) и смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 30 мин. Смесь охлаждали до 0°C и добавляли MeOH (18 мл) с последующим добавлением борогидрида натрия (694 мг, 18,4 ммоль), затем смеси давали медленно нагреться до комнатной температуры. Через 14 ч при комнатной температуре смесь охлаждали до 0°C и добавляли насыщенный раствор NH_4Cl (воды., 10 мл). Через 20 мин при комнатной температуре смесь концентрировали в вакууме, с последующим добавлением MeOH, и снова концентрировали. Остаток поглощали в MeOH, фильтровали, затем снова концентрировали. Добавляли толуол и суспензию обрабатывали ультразвуком, затем снова концентрировали. ЖХМС: $R_t=0,40$ мин; $m/z=301,4$ (M+1)

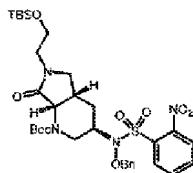
Метод 2m_кислотный.



Стадия 3: трет-бутил-(3*S*,4*aS*,7*aS*)-6-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этил)-3-гидрокси-7-оксооктагидро-1*H*-пирроло[3,4-*b*]пиридин-1-карбоксилат

К раствору трет-бутил-(3*S*,4*aS*,7*aS*)-3-гидрокси-6-(2-гидроксиэтил)-7-оксооктагидро-1*H*-пирроло[3,4-*b*]пиридин-1-карбоксилата (9,18 ммоль) в пиридине (18 мл) добавляли TBS-Cl (1,384 г, 9,18 ммоль). После перемешивания в течение 24 ч при комнатной температуре смесь концентрировали в вакууме и поглощали в EtOAc и промывали водой. Водный слой экстрагировали при помощи EtOAc (2×) и объединенные органические слои промывали насыщенным солевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле с получением указанного в заголовке соединения (2,433 г, 64% 3 стадии) в виде белого твердого вещества. ЖХМС: R_t=0,89 мин; m/z=415,4 (M+1)

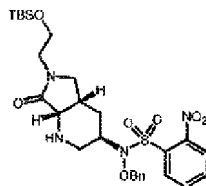
Метод 2*m*_кислотный.



Стадия 4: трет-бутил-(3*R*,4*aS*,7*aS*)-3-((*N*-(бензилокси)-2-нитрофенил)сульфонамидо)-6-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этил)-7-оксооктагидро-1*H*-пирроло[3,4-*b*]пиридин-1-карбоксилат

К раствору трет-бутил-(3*S*,4*aS*,7*aS*)-6-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этил)-3-гидрокси-7-оксооктагидро-1*H*-пирроло[3,4-*b*]пиридин-1-карбоксилата (2,411 г, 5,82 ммоль), *N*-(бензилокси)-2-нитробензолсульфонамида (2,160 г, 7,01 ммоль) и трифенилфосфина (1,830 г, 6,98 ммоль) в THF (65 мл) при -17°C добавляли по каплям DIAD (1,40 мл, 6,98 ммоль) в виде раствора в THF (10 мл). Смеси давали медленно нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 18 ч, затем концентрировали в вакууме и очищали непосредственно хроматографией на силикагеле, с получением указанного в заголовке соединения (1,785 г, выход 44%) в виде белого твердого вещества. ЖХМС: R_t=1,15 мин; m/z=705,4 (M+1)

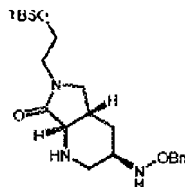
Метод 2*m*_кислотный.



Стадия 4: *N*-(бензилокси)-*N*-((3*R*,4*aS*,7*aS*)-6-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этил)-7-оксооктагидро-1*H*-пирроло[3,4-*b*]пиридин-3-ил)-2-нитробензолсульфонамид. В колбу, содержащую бромид цинка(II) (1,21 г, 5,37 ммоль, высушенный при 200°C в течение 3 ч) добавляли раствор трет-бутил-(3*R*,4*aS*,7*aS*)-3-((*N*-(бензилокси)-2-нитрофенил)сульфонамидо)-6-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этил)-7-оксооктагидро-1*H*-пирроло[3,4-*b*]пиридин-1-карбоксилата (1,79 г, 2,53 ммоль) в DCM (8,5 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение 18 ч смесь разбавляли при помощи DCM и гасили насыщенным раствором NaHCO₃.

После прекращения образования пузырьков слои разделяли и водный слой экстрагировали при помощи DCM (3×). Объединенные органические слои сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением белого пенистого вещества. ЖХМС: R_t=0,94 мин; m/z=605,3 (M+1)

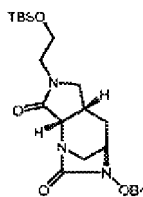
Метод 2*m*_кислотный.



Стадия 5: (3*R*,4*aS*,7*aS*)-3-((бензилокси)амино)-6-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этил)октагидро-7*H*-пирроло[3,4-*b*]пиридин-7-он

К суспензии *N*-(бензилокси)-*N*-((3*R*,4*aS*,7*aS*)-6-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этил)-7-оксооктагидро-1*H*-пирроло[3,4-*b*]пиридин-3-ил)-2-нитробензолсульфонамида (1,53 г, 2,53 ммоль) и K₂CO₃ (1,753 г, 12,68 ммоль) в ACN (25 мл) добавляли тиофенол (1,343 мл, 12,65 ммоль). Через 22 ч смесь фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле с получением указанного в заголовке соединения (919 мг, 87%, 2 стадии) в виде не совсем белого пенистого вещества. ЖХМС: R_t=0,82 мин; m/z=420,4 (M+1)

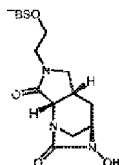
Метод 2*m*_кислотный.



Стадия 6: (4R,5aS,8aS)-3-(бензилокси)-7-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этил)гексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(3H)дион.

К раствору (3R,4aS,7aS)-3-((бензилокси)амино)-6-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этил)октагидро-7H-пирроло[3,4-b]пиридин-7-она (919 мг, 2,19 ммоль) и DIPEA (1,2 мл, 6,87 ммоль) в ацетонитриле (68,4 мл) при 0°C добавляли фосген (15-20% в толуоле, 1,60 мл, 2,24 ммоль) в виде раствора в ацетонитриле (10 мл) при скорости 8 мл/ч. Смеси давали медленно нагреться до комнатной температуры. Через 20 ч смесь концентрировали в вакууме, распределяли между EtOAc/HCl (воды., 0,2 M) и фазы разделяли. Водный слой экстрагировали при помощи EtOAc (2×) и объединенные органические слои промывали насыщенным соевым раствором, насыщенным раствором NaHCO₃, сушили над Na₂SO₄/MgSO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле с получением указанного в заголовке соединения (549 мг, 56%) в виде белого пенистого вещества. ЖХМС: R_t=0,95 мин; m/z=446,4 (M+1)

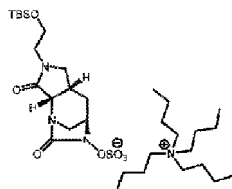
Метод 2m_кислотный.



Стадия 7: (4R,5aS,8aS)-7-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этил)-3-гидроксигексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(3H)дион

Суспензию (4R,5aS,8aS)-3-(бензилокси)-7-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этил)гексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(3H)-диона (110 мг, 0,247 ммоль) и Pd-C (10% Degussa тип 101, 50% воды, 25 мг, 0,012 ммоль) в MeOH (2,5 мл) дегазировали и снова заполняли H₂ (3×). После интенсивного перемешивания в течение 3 ч суспензию продували N₂, фильтровали через целит и концентрировали в вакууме. Добавляли толуол и смесь обрабатывали ультразвуком, затем снова концентрировали. Предполагаемый количественный выход. ЖХМС: R_t=0,71 мин; m/z=356,4

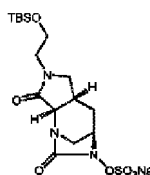
(M+1) Метод 2m_кислотный.



Стадия 8: (4R,5aS,8aS)-7-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этил)-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфат тетрабутиламмония

К раствору (4R,5aS,8aS)-7-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этил)-3-гидроксигексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(3H)-диона (0,247 ммоль) в пиридине (1,6 мл) добавляли SO₃·Py (197 мг, 1,24 ммоль). После перемешивания в течение 17 ч при комнатной температуре смесь концентрировали в вакууме и суспендировали в DCM, затем фильтровали и снова концентрировали в вакууме. Полученное твердое вещество растворяли в NaH₂PO₄ (1M водн., 20 мл), сразу после этого добавляли гидросульфат тетрабутиламмония (131 мг, 0,386 ммоль). После перемешивания в течение 45 мин смесь экстрагировали при помощи DCM (4×) и объединенные органические слои сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле (MeOH-DCM, 0-20%) с получением указанного в заголовке соединения (56 мг, 34%, 3 стадии) в виде не совсем белого пенистого вещества. ЖХМС: R_t=0,81 мин; m/z=436,3 (M+1)

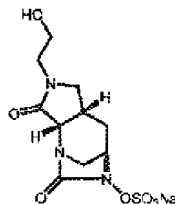
Метод 2m_кислотный.



Стадия 9: (4R,5aS,8aS)-7-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этил)-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфат натрия

DOWEX 50Wx8 водородную форму 200-400 меш кондиционировали путем перемешивания с NaOH (2 N) в течение 3 ч. Смолу загружали в стеклянную колонку и промывали водой (до pH ~6), затем водой:ацетоном (1:1). Раствор тетрабутиламмоний (4R,5aS,8aS)-7-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этил)-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфата (56 мг, 0,083 ммоль) в воде:ацетоне (1:1) загружали и пропускали через колонку, элюируя водой:ацетоном (1:1). Образец концентрировали в вакууме (температура бани <30°C) и лиофилизировали, с получением указанного в заголовке соединения (36 мг, выход 95%) в виде белого порошка. ЖХМС: $R_t=0,84$ мин; $m/z=436,3$ (M+1)

Метод 2m_кислотный.

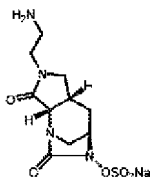


Стадия 10: (4R,5aS,8aS)-7-(2-гидроксиэтил)-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфат натрия

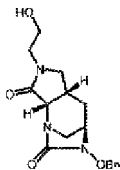
К суспензии (4R,5aS,8aS)-7-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этил)-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфата натрия (36 по каплям мг, 0,079 ммоль) в ацетонитриле (790 мкл) добавляли тригидрофторид триэтиламина (13,07 мкл, 0,079 ммоль) и полученный раствор нагревали до 45°C в течение 3 ч. Добавляли дополнительное количество тригидрофторида триэтиламина (13,07 мкл, 0,079 ммоль) и смесь нагревали до 45°C в течение 2 ч, затем концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток поглощали в фосфатный буфер (pH=6) и очищали обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ (колонка Atlantis T3, 30×100 мм, 5 мкм, C18 колонка; ACN-вода с 3,75 ммоль NH₄OAc буфера, 20-60 мл/мин) с получением указанного в заголовке соединения (13,9 мг) в виде белого порошка. ЖХМС: $R_t=0,34$ мин; $m/z=322,2$ (M+1)

Метод T3_3m_полярный.

¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 4,8 (д, J=8,0 Гц, 1H), 4,14 (с, 1H), 3,69 (т, J=5,4 Гц, 2H), 3,61 (дд, J=10,7, 6,3 Гц, 1H), 3,49-3,37 (м, 2H), 3,29-3,22 (м, 1H), 3,17-3,14 (м, 1H), 2,84 (д, J=12,2 Гц, 1H), 2,75-2,67 (м, 1H), 2,45 (ддт, J=14,7, 8,7, 3,0 Гц, 1H), 1,54 (ддд, J=14,8, 9,0, 2,0 Гц, 1H).



Пример 5. (4R,5aS,8aS)-7-(2-аминоэтил)-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-ил гидросульфат.

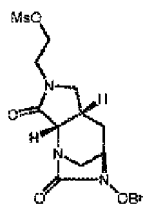


Стадия 1: (4R,5aS,8aS)-3-(бензилокси)-7-(2-гидроксиэтил)гексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(3H)-дион.

К раствору (4R,5aS,8aS)-3-(бензилокси)-7-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этил)гексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(3H)диона (530 мг, 1,19 ммоль) в THF (12 мл) при 0°C добавляли TBAF (1,2 мл, 1,20 ммоль). Через 1 ч при 0°C смесь концентрировали в вакууме, распределяли между EtOAc/водой и фазы разделяли. Водный слой экстрагировали при помощи EtOAc (2×) и объединенные органические слои промывали насыщенным солевым раствором, сушили над Na₂SO₄/MgSO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле (MeOH-DCM, 0-7%) с получением указанного в заголовке соединения (268 мг, 68%) в виде белого твердого вещества. ЖХМС: $R_t=0,55$ мин; $m/z=332,3$ (M+1)

Метод 2m_кислотный.

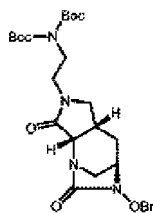
¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃-d) δ 7,48-7,36 (м, 5H), 5,09 (д, J=11,3 Гц, 1H), 4,93 (д, J=11,2 Гц, 1H), 4,18 (д, J=7,8 Гц, 1H), 3,87-3,75 (м, 2H), 3,66-3,54 (м, 2H), 3,42-3,35 (м, 1H), 3,30 (с, 1H), 3,10 (д, J=12,2 Гц, 1H), 3,03 (д, J=10,1 Гц, 1H), 2,81-2,72 (м, 2H), 2,48-2,39 (м, 2H), 1,38 (дд, J=14,2, 9,2 Гц, 1H).



Стадия 2: 2-((4R,5aS,8aS)-3-(бензилокси)-2,8-диоксооктагидро-7Н-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-7-ил)этилметансульфонат

К раствору (4R,5aS,8aS)-3-(бензилокси)-7-(2-гидроксиэтил)гексагидро-2Н-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(3Н)диона (265,4 мг, 0,801 ммоль) и ТЕА (140 мкл, 1,00 ммоль) в DCM (4,0 мл) добавляли MsCl (65,5 мкл, 0,841 ммоль). Через 45 мин смесь промывали водой. Водный слой экстрагировали при помощи DCM (2×) и объединенные органические слои сушили над Na₂SO₄/MgSO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением указанного в заголовке соединения (332 мг) в виде белого твердого вещества. ЖХМС: R_t=0,55 мин; m/z=410,3 (M+1)

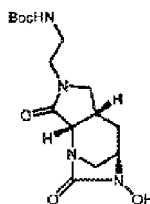
Метод 2m_кислотный.



Стадия 3: Ди-трет-бутил-(2-((4R,5aS,8aS)-3-(бензилокси)-2,8-диоксооктагидро-7Н-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-7-ил)этил)иминодикарбоксилат

К раствору ди-трет-бутилиминодикарбоксилата (153 мг, 0,704 ммоль) в DMF (3,2 мл) добавляли калия трет-бутоксид (1М в THF, 700 мкл, 0,700 ммоль). Через 30 мин при комнатной температуре добавляли раствор 2-((4R,5aS,8aS)-3-(бензилокси)-2,8-диоксооктагидро-7Н-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-7-ил)этилметансульфоната (262 мг, 0,640 ммоль) в DMF (2 мл, 2×500 мкл промывки). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин, нагревали до 50°C в течение 100 мин, затем перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч, сразу после этого добавляли смесь разбавляли при помощи EtOAc и промывали насыщенным солевым раствором (1/2 насыщенный). Водный слой экстрагировали при помощи EtOAc (2×) и объединенные органические слои сушили над Na₂SO₄/MgSO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле (EtOAc-гептан, 0-90%) с получением указанного в заголовке соединения (293 мг, 86%) в виде белого твердого вещества. ЖХМС: R_t=0,87 мин; m/z=431,4 (M - Boc +1)

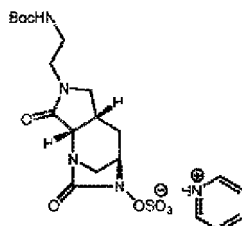
Метод 2m_кислотный.



Стадия 4: трет-бутил-(2-((4R,5aS,8aS)-3-гидрокси-2,8-диоксооктагидро-7Н-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-7-ил)этил)карбамат

Суспензию ди-трет-бутил-(2-((4R,5aS,8aS)-3-(бензилокси)-2,8-диоксооктагидро-7Н-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-7-ил)этил)иминодикарбоксилата (226,8 мг, 0,427 ммоль) и Pd-C (10% Degussa тип 101, 50% воды, 45,3 мг, 0,021 ммоль) в MeOH (4,2 мл) дегазировали и снова заполняли H₂ (3×). После 3 ч интенсивного перемешивания суспензию продували N₂, фильтровали через целит и концентрировали в вакууме. Добавляли толуол и смесь обрабатывали ультразвуком, затем снова концентрировали. Предполагаемый количественный выход. ЖХМС: R_t=0,65 мин; m/z=341,4 (M+1)

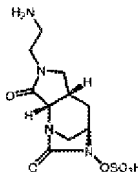
Метод 2m_кислотный.



Стадия 5: (4R,5aS,8aS)-7-(2-((трет-бутоксикарбонил)амино)этил)-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфат пиридин-1-ия

К раствору трет-бутил-(2-((4R,5aS,8aS)-3-гидрокси-2,8-диоксооктагидро-7H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-7-ил)этил)карбамата в пиридине (3 мл) добавляли SO₃-пиридин (335 мг, 2,10 ммоль). Через 15 ч при комнатной температуре смесь концентрировали в вакууме, суспендировали в DCM и фильтровали с получением указанного в заголовке соединения в виде не совсем белого твердого вещества. Предполагаемый количественный выход. ЖХМС: R_t=0,59 мин; m/z=321,4 (M - Вос +1)

Метод 2m_кислотный.

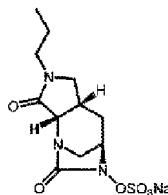


Стадия 6: (4R,5aS,8aS)-7-(2-аминоэтил)-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-ил гидросульфат.

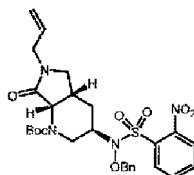
К суспензии (4R,5aS,8aS)-7-(2-((трет-бутоксикарбонил)амино)этил)-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфата пиридин-1-ия (210 мг, 0,421 ммоль) в DCM (4,2 мл) при 0°C добавляли TFA (973 мкл, 12,63 ммоль). Через 2,5 ч при 0°C смесь концентрировали в вакууме, суспендировали в DCM и снова концентрировали. Неочищенный остаток поглощали в фосфатный буфер (pH=6), фильтровали и очищали обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ (колонка Atlantis ТЗ, 30×100 мм, 5 мкм, С18 колонка; вода с 3,75 ммоль NH₄ОАС буфера, 20-60 мл/мин) с получением указанного в заголовке соединения (155 мг) в виде белого порошка. ЖХМС: R_t=0,22 мин; m/z=321,4 (M+1)

Метод ТЗ_3m_полярный.

¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 4,00 (д, J=8,1 Гц, 1H), 3,94 (с, 1H), 3,61 (дт, J=14,3, 6,9 Гц, 1H), 3,45 (дд, J=10,5, 6,4 Гц, 1H), 3,28 (дт, J=14,8, 5,6 Гц, 1H), 3,06 (ушир.д, J=12,4 Гц, 1H), 2,96 (т, J=6,2 Гц, 2H), 2,92 (д, J=10,5 Гц, 1H), 2,68 (д, J=12,3 Гц, 1H), 2,55 (п, J=8,3 Гц, 1H), 2,31-2,21 (м, 1H), 1,38 (дд, J=14,9, 9,1 Гц, 1H).



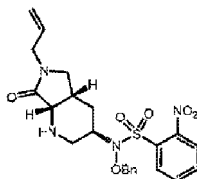
Пример 6. (4R,5aS,8aS)-2,8-диоксо-7-пропилгексагидро-2H-1,4-метанопирроло [3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфат натрия.



Стадия 1: трет-Бутил-(3R,4aS,7aS)-6-аллил-3-((N-(бензилокси)-2-нитрофенил)сульфонамидо)-7-оксооктагидро-1H-пирроло[3,4-b]пиридин-1-карбоксилат.

К раствору трет-бутил-(3S,4aS,7aS)-6-аллил-3-гидрокси-7-оксооктагидро-1H-пирроло[3,4-b]пиридин-1-карбоксилата (786,4 мг, 2,65 ммоль), N-(бензилокси)-2-нитробензолсульфонамида (900 мг, 2,92 ммоль) и трифенилфосфина (835 мг, 3,18 ммоль) в THF (29 мл) при -17°C добавляли DIAD (0,640 мл, 3,18 ммоль) в виде раствора в THF (4,1 мл) по каплям в 6:30 вечера. Смеси давали медленно нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 22 ч, затем концентрировали в вакууме и очищали непосредственно хроматографией на силикагеле (EtOAc-гептан, 0-40%) с получением указанного в заголовке соединения (846 мг, 54%) в виде не совсем белого твердого вещества. ЖХМС: R_t=0,95 мин; m/z=587,3 (M+1)

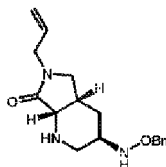
Метод 2m_кислотный.



Стадия 2: N-((3R,4aS,7aS)-6-аллил-7-оксооктагидро-1H-пирроло[3,4-b]пиридин-3-ил)-N-(бензилокси)-2-нитробензолсульфонамид.

В колбу, содержащую бромид цинка(II) (681 мг, 3,02 ммоль, высушенный при 200°C в течение 4 ч) и трет-бутил-(3R,4aS,7aS)-6-аллил-3-((N-(бензилокси)-2-нитрофенил)сульфонамидо)-7-оксооктагидро-1H-пирроло[3,4-b]пиридин-1-карбоксилат (845 мг, 1,44 ммоль), в атмосфере N₂, добавляли DCM (4,8 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение 15 ч смесь разбавляли при помощи DCM и гасили насыщенным раствором NaHCO₃. После прекращения образования пузырьков слои разделяли и водный слой экстрагировали при помощи DCM (3×). Объединенные органические слои сушили над Na₂SO₄ и концентрировали в вакууме с получением белого пенистого вещества. Предполагаемый количественный выход. ЖХМС: Rt=0,70 мин; m/z=487,2 (M+1)

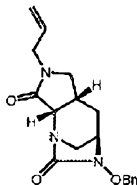
Метод 2m_кислотный.



Стадия 3: (3R,4aS,7aS)-6-аллил-3-((бензилокси)амино)октагидро-7H-пирроло[3,4-b]пиридин-7-он.

К суспензии N-((3R,4aS,7aS)-6-аллил-7-оксооктагидро-1H-пирроло[3,4-b]пиридин-3-ил)-N-(бензилокси)-2-нитробензолсульфонамида (1,44 ммоль) и K₂CO₃ (995 мг, 7,20 ммоль) в ACN (14,4 мл) добавляли тиофенол (764 мкл, 7,20 ммоль). Через 21 ч смесь фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле (MeOH-DCM, 0-8%) с получением указанного в заголовке соединения (385 мг, 89%, 2 стадии) в виде не совсем белого пенистого вещества. ЖХМС: Rt=0,49 мин; m/z=302,4 (M+1)

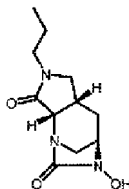
Метод 2m_кислотный.



Стадия 4: (4R,5aS,8aS)-7-аллил-3-(бензилокси)гексагидро-2H-1,4-метано-пирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(3H)дион.

К раствору (3R,4aS,7aS)-6-аллил-3-((бензилокси)амино)октагидро-7H-пирроло[3,4-b]пиридин-7-она (385 мг, 1,28 ммоль) и DIPEA (670 мл, 3,83 ммоль) в ACN (40 мл) при 0°C добавляли фосген (1,20 мл, 1,66 ммоль) в виде раствора в ACN (5,7 мл) при скорости 6,5 мл/ч. Смеси давали медленно нагреться до комнатной температуры. Через 20 ч смесь концентрировали в вакууме, распределяли между EtOAc/HCl (0,2 N) и фазы разделяли. Водный слой экстрагировали при помощи EtOAc (3×) и объединенные органические слои промывали насыщенным солевым раствором и насыщенным раствором NaHCO₃. Промывку насыщенным солевым раствором объединяли с промывкой насыщенным раствором NaHCO₃ и раствор экстрагировали при помощи 10% MeOH/DCM (2×). Кислотный водный слой снова экстрагировали при помощи 10% MeOH/DCM (2×) и объединенные органические слои сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле (MeOH-DCM, 0-10%) с получением указанного в заголовке соединения (369,2 мг, 88%) в виде белого пенистого вещества. ЖХМС: Rt=0,60 мин; m/z=328,4 (M+1)

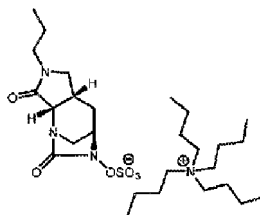
Метод 2m_кислотный.



Стадия 5: (4R,5aS,8aS)-3-гидрокси-7-пропилгексагидро-2H-1,4-метано-пирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(3H)-дион.

Суспензию (4R,5aS,8aS)-7-аллил-3-(бензилокси)гексагидро-2H-1,4-метано-пирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(3H)-диона (209 мг, 0,638 ммоль) и Pd-C (10% Degussa тип 101, 50% воды, 41 мг, 0,019 ммоль) в MeOH (6,4 мл) дегазировали и снова заполняли H₂ (3×). После интенсивного перемешивания в течение 5 ч суспензию продували N₂, снова добавляли Pd-C (10% Degussa тип 101, 50% воды, 41 мг, 0,019 ммоль), смесь дегазировали и снова заполняли H₂ (3×). После интенсивного перемешивания в течение 2 ч смесь продували N₂, затем фильтровали через целит и концентрировали в вакууме. Добавляли толуол и смесь обрабатывали ультразвуком, затем снова концентрировали. Предполагаемый количественный выход. ЖХМС: R_t=0,27 мин; m/z=240,3 (M+1)

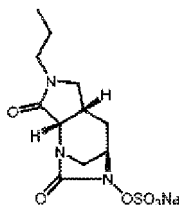
Метод 2m_кислотный.



Стадия 6: (4R,5aS,8aS)-2,8-диоксо-7-пропилгексагидро-2H-1,4-метано-пирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфат тетрабутиламмония

К раствору (4R,5aS,8aS)-3-гидрокси-7-пропилгексагидро-2H-1,4-метано-пирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(3H)-диона (0,638 ммоль) в пиридине (6,4 мл) добавляли $\text{SO}_3 \cdot \text{Py}$ (508 мг, 3,19 ммоль). После перемешивания в течение 13 ч при комнатной температуре смесь фильтровали и концентрировали в вакууме. Полученное твердое вещество растворяли в NaH_2PO_4 (1M водн., 40 мл), сразу после этого добавляли гидросульфат тетрабутиламмония (325 мг, 0,957 ммоль). После перемешивания в течение 1,5 ч смесь экстрагировали при помощи DCM (4x) и объединенные органические слои сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле (MeOH-DCM, 0-15%) с получением указанного в заголовке соединения (229 мг, 64%, 3 стадии) в виде белого твердого вещества. ЖХМС: $R_f=0,81$ мин; $m/z=436,3$ (M+1)

Метод 2m_кислотный.

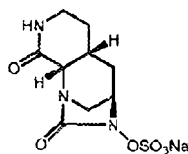


Стадия 7: (4R,5aS,8aS)-2,8-диоксо-7-пропилгексагидро-2H-1,4-метано-пирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфат натрия.

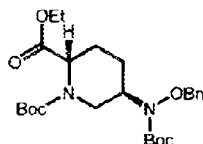
DOWEX 50Wx8 водородную форму 200-400 меш кондиционировали путем перемешивания с NaOH (2 N) в течение 2 ч. Смолу загружали в стеклянную колонку и промывали водой (до pH ~6), затем водой:ацетоном (1:1). Раствор (4R,5aS,8aS)-2,8-диоксо-7-пропилгексагидро-2H-1,4-метано-пирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфата тетрабутиламмония (228 мг, 0,408 ммоль) в воде:ацетоне (1:1) загружали в колонку и пропускали через нее, элюируя водой:ацетоном (1:1). Образец концентрировали в вакууме (температура бани 30°C) и лиофилизировали с получением указанного в заголовке соединения (120 мг, 85%) в виде белого порошка. ЖХМС: $R_f=0,30$ мин; $m/z=320,3$ (M+1)

Метод 2m_кислотный.

^1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ 4,18 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 4,14 (с, 1H), 3,54 (дд, $J=10,9, 6,3$ Гц, 1H), 3,32-3,17 (м, 3H), 3,10 (д, $J=10,8$ Гц, 1H), 2,80 (д, $J=12,2$ Гц, 1H), 2,69 (п, $J=8,2$ Гц, 1H), 2,50-2,41 (м, 1H), 1,57-1,47 (м, 3H), 0,81 (т, $J=7,4$, 3H).



Пример 7. (4R,5aR,9aS)-2,9-диоксооктагидро-1,4-метано-пиридо[3,4-d][1,3]дiazепин-3(2H)-ил гидросульфат натрия.

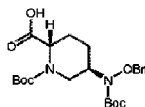


Стадия 1: 1-(трет-бутил)-2-этил-(2S,5R)-5-((бензилокси)(трет-бутоксикарбонил)амино)пиперидин-1,2-дикарбоксилат

К суспензии оксалата (2S,5R)-этил-5-((бензилокси)амино)пиперидин-2-карбоксилата (13,25 г, 36,0 ммоль) в EtOAc (200 мл) добавляли Na_2CO_3 (2,0 M, 80 мл, 160 ммоль) и гидроксид натрия (1,0 M, 40 мл, 40 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Образовавшийся осадок отфильтровывали и два слоя фильтрата разделяли. Органический слой промывали насыщенным соевым раствором (50 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме, с получением вязкого масла (10,0 г). К раствору этого масла (10,0 г, 35,9 ммоль) в THF (100 мл) добавляли Вос-ангидрид (23,5 г, 108 ммоль), триэтиламин (15,0 мл, 108 ммоль) и DMAP (4,38 г, 35,9 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 60 ч и затем нагревали при 50°C в течение 2 дней. Растворитель удаляли в ва-

кууме и снова поглощали в EtOAc/Гептан (300 мл, 1/1), промывали водой (100 мл), HCl (0,1 N, 50 мл), насыщенным соевым раствором (50 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле (EtOAc-Гептан, 0-40%) с получением указанного в заголовке соединения (9,6 г, 55%) в виде масла. ЖХМС: R_t=1,19 мин, m/z=479,2 (M+1),

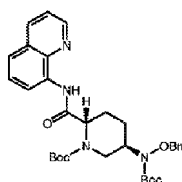
Метод 2m_кислотный.



Стадия 2: (2S,5R)-5-((бензилокси)(трет-бутоксикарбонил)амино)-1-(трет-бутоксикарбонил)пиперидин-2-карбоновая кислота.

К раствору 1-(трет-бутил)-2-этил-(2S,5R)-5-((бензилокси)(трет-бутоксикарбонил)амино)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (9,60 мг, 20,06 ммоль) в THF:MeOH (3:1, 80 мл) при 0°C медленно добавляли раствор гидроксида натрия (1 N, 40 мл). Через 5 ч при комнатной температуре медленно добавляли HCl (1 N, 41 мл) и смесь экстрагировали при помощи EtOAc (300 мл). Органический слой сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением указанного в заголовке соединения (8,78 г, 97%) в виде пластичного твердого вещества. ЖХМС: R_t=1,05 мин, m/z=451,2 (M+1)

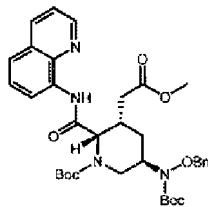
Метод 2m_кислотный.



Стадия 3: трет-Бутил-(2S,5R)-5-((бензилокси)(трет-бутоксикарбонил)амино)-2-(хинолин-8-илкарбамоил)пиперидин-1-карбоксилат

К раствору (2S,5R)-5-((бензилокси)(трет-бутоксикарбонил)амино)-1-(трет-бутоксикарбонил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (6,010 г, 13,34 ммоль) в DCM (100 мл) при 0°C добавляли хинолин-8-амин (2116 мг, 14,67 ммоль) с последующим добавлением DIPEA (4,66 мл, 26,7 ммоль) и HATU (6,087 г, 16,01 ммоль). После перемешивания под аргоном при комнатной температуре в течение 2,5 ч смесь выливали в воду (150 мл) и экстрагировали при помощи DCM (100 мл). Органический слой сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле (EtOAc-Гептан, 10-40%) с получением указанного в заголовке соединения (6,60 г, 86%) в виде пластичного твердого вещества. ЖХМС: R_t=1,22 мин, m/z=577,3 (M+1),

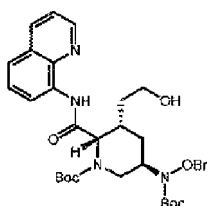
Метод 2m_кислотный.



Стадия 4: трет-Бутил-(2S,3S,5R)-5-((бензилокси)(трет-бутоксикарбонил)амино)-3-(2-метокси-2-оксоэтил)-2-(хинолин-8-илкарбамоил)пиперидин-1-карбоксилат

К раствору трет-бутил-(2S,5R)-5-((бензилокси)(трет-бутоксикарбонил)амино)-2-(хинолин-8-илкарбамоил)пиперидин-1-карбоксилата (5,580 г, 9,68 ммоль) в 2-метил-2-бутаноле (95 мл) добавляли дибензилгидрофосфат (538 мг, 1,94 ммоль), карбонат серебра (5,336 мг, 19,35 ммоль), Pd(II) ацетат (434 мг, 1,94 ммоль) и метил-2-бромацетат (2,83 мл, 29,0 ммоль). Смесь продували аргоном, герметично закрывали и нагревали до 110°C в течение 20 ч. Добавляли дополнительное количество Pd(II) ацетата (217 мг, 0,97 ммоль) и метил-2-бромацетата (1,88 мл, 19,36 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 110°C еще в течение 20 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли при помощи DCM (100 мл), фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле (EtOAc-Гептан, 0-35%) с получением указанного в заголовке соединения (2,170 г, 35%) в виде вязкого масла. ЖХМС: R_t=1,26 мин, m/z=649,3 (M+1),

Метод 2m_кислотный.

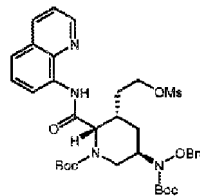


Стадия 5: трет-Бутил-(2S,3S,5R)-5-((бензилокси)(трет-бутоксикарбонил)амино)-3-(2-гидроксиэтил)-

2-(хинолин-8-илкарбамоил)пиперидин-1-карбоксилат.

К раствору трет-бутил-(2*S*,3*S*,5*R*)-5-((бензилокси)трет-бутоксикарбонил)амино)-3-(2-метокси-2-оксоэтил)-2-(хинолин-8-илкарбамоил)пиперидин-1-карбоксилата (2,40 г, 3,70 ммоль) в THF (60 мл) при 0°C добавляли супергидрид (1,0 М в THF, 18,50 мл, 18,5 ммоль). После перемешивания при 0°C в течение 5 ч добавляли AcOH (50% водн., 10 мл) с последующим добавлением насыщенного NH₄Cl (30 мл) и EtOAc (150 мл). Слои разделяли и органический слой промывали насыщенным соевым раствором (50 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле (EtOAc-Гептан, 10-60%) с получением указанного в заголовке соединения (680 мг, 30%). ЖХМС: R_t=1,16 мин, m/z=621,1 (M+1),

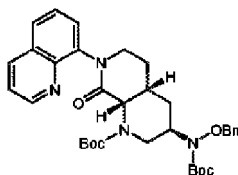
Метод 2m_кислотный.



Стадия 6: трет-Бутил-(2*S*,3*S*,5*R*)-5-((бензилокси)трет-бутоксикарбонил)амино)-3-(2-((метилсульфонил)окси)этил)-2-(хинолин-8-илкарбамоил)пиперидин-1-карбоксилат

К раствору трет-бутил-(2*S*,3*S*,5*R*)-5-((бензилокси)трет-бутоксикарбонил)амино)-3-(2-гидроксиэтил)-2-(хинолин-8-илкарбамоил)пиперидин-1-карбоксилата (680 мг, 1,10 ммоль) в дихлорметане (20 мл) при 0°C добавляли триэтиламин (0,30 мл, 2,19 ммоль) и метилсульфонилхлорид (0,17 мл, 2,19 ммоль). После перемешивания в течение 20 ч при комнатной температуре смесь разбавляли водой (20 мл) и EtOAc (100 мл) и перемешивали еще в течение 15 мин, сразу после этого слои разделяли. Органический слой промывали NaH₂PO₄ (1,0 М, 2×40 мл), насыщенным соевым раствором (30 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением указанного в заголовке соединения (количественный выход) в виде пластичного твердого вещества. ЖХМС: R_t=1,22 мин, m/z=699,4 (M+1),

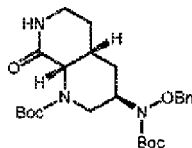
Метод 2m_кислотный.



Стадия 7: трет-Бутил-(3*R*,4*aR*,8*aS*)-3-((бензилокси)трет-бутоксикарбонил)амино)-8-оксо-7-(хинолин-8-ил)октагидро-1,7-нафтиридин-1(2*H*)-карбоксилат

К раствору трет-бутил-(2*S*,3*S*,5*R*)-5-((бензилокси)трет-бутоксикарбонил)амино)-3-(2-((метилсульфонил)окси)этил)-2-(хинолин-8-илкарбамоил)пиперидин-1-карбоксилата (690 мг, 0,99 ммоль) в THF (16 мл) при 0°C добавляли LDA (1,0 М в THF/гексане, 1,97 мл). После перемешивания при 0°C в течение 2,5 ч смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Добавляли насыщенный раствор NH₄Cl (20 мл) и смесь экстрагировали при помощи EtOAc (80 мл). Органический слой промывали насыщенным соевым раствором (20 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле (EtOAc-Гептан, 30-80%) с получением указанного в заголовке соединения (680 мг, 45%) в виде пластичного твердого вещества. ЖХМС: R_t=1,03 мин, m/z=603,4 (M+1),

Метод 2m_кислотный.

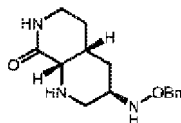


Стадия 8: трет-Бутил-(3*R*,4*aR*,8*aS*)-3-((бензилокси)трет-бутоксикарбонил)амино)-8-оксооктагидро-1,7-нафтиридин-1(2*H*)-карбоксилат

Раствор трет-бутил-(3*R*,4*aR*,8*aS*)-3-((бензилокси)трет-бутоксикарбонил)амино)-8-оксо-7-(хинолин-8-ил)октагидро-1,7-нафтиридин-1(2*H*)-карбоксилата (270 мг, 0,448 ммоль) в безводном DCM (15 мл) при -78°C барботировали O₃ до получения стойкого синего цвета, сразу после этого барботажную линию удаляли. После перемешивания при -78°C в течение 45 мин синий цвет исчезал и смесь снова барботировали O₃ до получения стойкого синего цвета. После перемешивания в течение 15 мин систему барботировали O₂ до тех пор, пока она не становилась бесцветной. К раствору добавляли диметилсульфид (100 мл, 1,36 ммоль). После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 ч смесь концентрировали в вакууме. Остаток снова растворяли в THF (5 мл) и добавляли NH₄OH (25% водн., 5 мл). После перемешивания в течение 16 ч смесь разбавляли при помощи EtOAc (50 мл) и органический слой промывали водой (20 мл), насыщенным соевым раствором (20 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентри-

ровали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле (EtOAc-Гептан, 70-100%) с получением указанного в заголовке соединения (96 мг, 45%) в виде твердого вещества. ЖХМС: $R_t=1,00$ мин, $m/z=476,2$ (M+1),

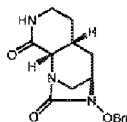
Метод 2m_кислотный.



Стадия 9: (3R,4aR,8aS)-3-((бензилокси)амино)октагидро-1,7-нафтиридин-8(2H)-он

К раствору трет-бутил-(3R,4aR,8aS)-3-((бензилокси)трет-бутоксикарбонил)амино)-8-оксооктагидро-1,7-нафтиридин-1(2H)-карбоксилата (120 мг, 0,252 ммоль) в DCM (3 мл) при 0°C медленно добавляли TFA (1,5 мл). После выдерживания в течение 3 ч при 0°C затем при комнатной температуре в течение 1 ч смесь концентрировали в вакууме (температура бани <30°C). Остаток поглощали в DCM:EtOH (5:1, 30 мл) и добавляли Na₂CO₃ (2M, 10 мл). Слои разделяли и водный слой экстрагировали при помощи DCM:EtOH (5:1, 2×30 мл). Объединенные органические слои сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле (MeOH-DCM, 10-25%) с получением указанного в заголовке соединения (60 мг, 86%) в виде твердого вещества. ЖХМС: $R_t=0,58$ мин, $m/z=276,1$ (M+1),

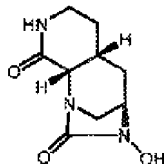
Метод 2m_кислотный.



Стадия 10: (4R,5aR,9aS)-3-(бензилокси)гексагидро-1,4-метанопиридо[3,4-d][1,3]дiazепин-2,9(3H,6H)дион

К раствору (3R,4aR,8aS)-3-((бензилокси)амино)октагидро-1,7-нафтиридин-8(2H)-она (56 мг, 0,20 ммоль) в ACN (21 мл) при 0°C в атмосфере N₂ добавляли DIPEA (140 мл, 0,81 ммоль). Добавляли раствор трифосгена (24 мг, 0,08 ммоль) в ACN (3 мл) через шприцевой насос (0,1 мл/мин). После перемешивания при 0°C в течение 6 ч смесь частично концентрировали (~10 мл) в вакууме, разбавляли при помощи DCM (40 мл), промывали водой (20 мл), насыщенным солевым раствором (20 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле (MeOH-DCM, 0-5%) с получением указанного в заголовке соединения (50 мг, 82%) в виде не совсем белого твердого вещества. ЖХМС: $R_t=0,65$ мин, $m/z=302,0$ (M+1),

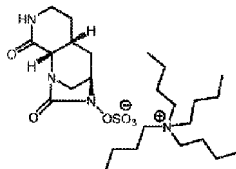
Метод 2m_кислотный.



Стадия 11: (4R,5aR,9aS)-3-гидроксигексагидро-1,4-метанопиридо[3,4-d][1,3]дiazепин-2,9(3H,6H)дион

Суспензию (4R,5aR,9aS)-3-(бензилокси)гексагидро-1,4-метанопиридо[3,4-d][1,3]дiazепин-2,9(3H,6H)диона (50 мг, 0,17 ммоль) и Pd-C (10% Degussa тип 101, 50% воды, 27 мг) в MeOH:DCM (3:1, 4 мл) вакуумировали и снова заполняли H₂. После 2 ч интенсивного перемешивания смесь фильтровали через слой целита, промывая при помощи MeOH, и концентрировали в вакууме. ЖХМС: $R_t=0,20$ мин, $m/z=212,0$ (M+1),

Метод 2m_кислотный.

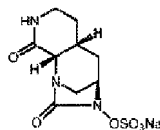


Стадия 12: (4R,5aR,9aS)-2,9-диоксооктагидро-1,4-метанопиридо[3,4-d][1,3]дiazепин-3(2H)-ил-сульфат тетрабутиламмония.

К суспензии неочищенного (4R,5aR,9aS)-3-гидроксигексагидро-1,4-метанопиридо[3,4-d][1,3]дiazепин-2,9(3H,6H)диона (35 мг, 0,17 ммоль) в пиридине (3 мл) при 0°C добавляли SO₃·Py (132 мг, 0,83 ммоль). После интенсивного перемешивания при комнатной температуре в течение 20 ч суспензию фильтровали и твердое вещество промывали холодным DCM (5 мл). Фильтрат концентрировали в вакууме (температура бани <30°C) и неочищенный остаток растворяли в NaH₂PO₄ (1M, 10 мл), сразу после этого добавляли гидросульфат тетрабутиламмония (84 мг, 0,25 ммоль). Через 30 мин смесь экстрагировали при помощи CHCl₃:IPA (4:1, 3×30 мл). Объединенные органические слои сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силика-

геле (MeOH-DCM, 5-2%) с получением указанного в заголовке соединения в виде белого пенистого вещества. ЖХМС: $R_t=0,15$ мин, $m/z=292,0$ (M+1),

Метод 2m_кислотный.



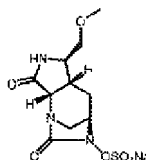
Стадия 13: (4R,5aR,9aS)-2,9-диоксооктагидро-1,4-метанопиридо[3,4-d][1,3]дiazепин-3(2H)-ил гидросульфат натрия

DOWEX 50Wx8 водородную форму 200-400 меш кондиционировали путем перемешивания с NaOH (2 N) в течение 2 ч. Смолу загружали в стеклянную колонку и промывали водой (до pH ~6), затем водой:ацетоном (1:1).

(4R,5aR,9aS)-2,9-диоксооктагидро-1,4-метанопиридо[3,4-d][1,3]дiazепин-3(2H)-илсульфат тетрабутиламмония (228 мг, 0,408 ммоль) в ацетоне:воде (1:1) загружали в колонку и пропускали через нее, элюируя водой (20 мл), затем ацетоном:водой (1:4, 30 мл). Образец лиофилизировали с получением указанного в заголовке соединения (28 мг, 52%) в виде белого твердого вещества. ЖХМС: $R_t=0,29$ мин, $m/z=291,8$ (M+1)

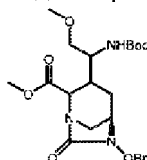
Метод T3_3m_полярный

^1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ 4,31(м, 1H), 4,09 (д, $J=7,1$ Гц, 1H), 3,55 (тд, $J=12,8, 4,3$ Гц, 1H), 3,26-3,34 (м, 2H), 2,87 (д, $J=12,3$ Гц, 1H), 2,55-2,64 (м, 1H), 2,21-2,30 (м, 1H), 1,99-2,09 (м, 1H), 1,80-1,88 (м, 1H) 1,72-1,79 (м, 1H).



Пример 8. (4R,5aS,6R,8aS)-6-(метоксиметил)-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-ил гидросульфат натрия

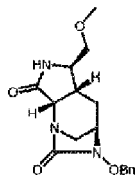
Стадия 1: Метил-(5R)-6-(бензилокси)-3-(1-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метоксиэтил)-7-оксо-1,6-дiazабицикло[3.2.1]октан-2-карбоксилат (смесь диастереоизомеров)



Промежуточное соединение С (1,10 г, 3,82 ммоль), Вос-L-Ser(OMe)-OH (1,04 г, 4,58 ммоль) и $\text{Ir}[\text{df}(\text{CF}_3)\text{ppy}_2(\text{dtbpy})]\text{PF}_6$ (43 мг, 0,04 ммоль) растворяли в DMF (16 мл). К раствору добавляли тонкоизмельченный двухосновный фосфат калия (0,62 г, 4,58 ммоль) и полученную суспензию перемешивали и облучали в течение 12 дней с использованием синей лампы Kessil H150 на расстоянии ≤ 2 см. Через 3 и через 9 дней добавляли $\text{Ir}[\text{df}(\text{CF}_3)\text{ppy}_2(\text{dtbpy})]\text{PF}_6$ (43 мг, 0,04 ммоль) (общее количество катализатора 3 мол.%). К реакционной смеси добавляли воду (15 мл), затем насыщенный раствор NaHCO_3 (водн., 15 мл), который затем экстрагировали при помощи ТВМЕ (3x60 мл). Объединенные органические фазы промывали насыщенным соевым раствором (10 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали в вакууме с получением указанного в заголовке соединения (1,85 г) в виде желтого масла, состоящего из 4 диастереоизомеров (соотношение 39:16:11:34). ЖХМС: $R_t=1,02$ мин, 1,05 мин, 1,08 мин, 1,12 мин все с $m/z=464$ (M+1),

ЖХМС_2 МИН МОНИТОРИНГ РЕАКЦИИ.

Стадия 2: (4R,5aS,6R,8aS)-3-(бензилокси)-6-(метоксиметил)гексагидро-2H-1,4-метанопирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(3H)-дион.



К раствору метил-(5R)-6-(бензилокси)-3-(1-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метоксиэтил)-7-оксо-1,6-дiazабицикло[3.2.1]октан-2-карбоксилата (1,85 г, 4,0 ммоль) в DCM (60 мл) при 0°C добавляли по каплям TFA (15,4 мл, 200 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 ч, затем концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток растворяли в DCM (60 мл), затем добавляли по каплям триэтиламин (11,1 мл, 80 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, сразу после этого смесь концентрировали с получением красноватого

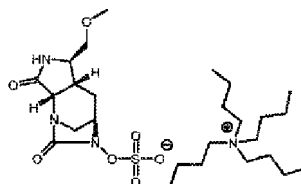
масла (6,8 г). Добавляли воду (20 мл) и смесь экстрагировали при помощи ТВМЕ (3×80 мл). Объединенные органические фазы сушили над Na_2SO_4 и концентрировали в вакууме с получением желтого масла (1,13 г). Водную фазу насыщали NaCl (нас.) и затем экстрагировали при помощи DCM (3×80 мл). Объединенные органические фазы сушили над Na_2SO_4 и концентрировали в вакууме с получением дополнительного количества неочищенного продукта (0,95 г). Объединенный неочищенный продукт очищали ВЭЖХ хроматографией (Sunfire-C18, 5мкм, 50×250 мм, вода/ACN +0,1% TFA, 100 мл/мин, 18-38% в течение 21 мин, всего 35 мин), при этом pH фракций доводили до 6,9 путем добавления насыщенного раствора NaHCO_3 (водн.) и лиофилизировали с получением светло-коричневого остатка (0,59 г). Этот остаток растворяли в ACN/воде и очищали через C18 картридж (ACN-вод), в результате лиофилизированное вещество давало указанное в заголовке соединения (62 мг, 4,1% 3 стадии). ЖХМС: $R_t=0,70$ мин, $m/z=332$ (M+1),

ЖХМС_2 МИН_МОНИТОРИНГ_РЕАКЦИИ

Стадия 3: (4R,5aS,6R,8aS)-3-гидрокси-6-(метоксиметил)гексагидро-2H-1,4-метано-пирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(8aH)-дион

(4R,5aS,6R,8aS)-3-(бензилокси)-6-(метоксиметил)гексагидро-2H-1,4-метано-пирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(8aH)-дион (59 мг, 0,178 ммоль) растворяли в MeOH:DCM (1:1, 1,78 мл). Смесь продували азотом, добавляли Pd-C (10% Degussa тип 101, 50% воды, 37,9 мг, 0,018 ммоль), затем оставляли в атмосфере H_2 в течение 90 мин. Смесь фильтровали через целит, элюируя при помощи DCM:MeOH (1:1), и концентрировали в вакууме с получением указанного в заголовке соединения (49 мг, количественный) в виде бесцветного твердого вещества. ЖХ/МС: $R_t=0,12$ мин; $m/z=242,0$ (M+1)

Метод 2m_кислотный.

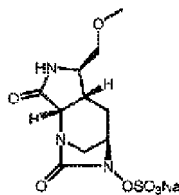


Стадия 4: (4R,5aS,6R,8aS)-6-(метоксиметил)-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метано-пирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфат тетрабутиламмония

К раствору (4R,5aS,6R,8aS)-3-гидрокси-6-(метоксиметил)гексагидро-2H-1,4-метано-пирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-2,8(8aH)-диона (42 мг, 0,174 ммоль) в пиридине (1,85 мл) добавляли SO_3 -пиридин (139 мг, 0,870 ммоль). Смесь перемешивали в течение 18 ч, затем фильтровали через мембранный фильтр и концентрировали в вакууме (температура бани < 30°C). Неочищенный остаток растворяли в насыщенном растворе NaH_2PO_4 и промывали при помощи EtOAc. Слои разделяли и к водной фазе добавляли гидро-сульфат тетрабутиламмония (89 мг, 0,261 ммоль).

Смесь перемешивали в течение 30 мин, затем экстрагировали при помощи DCM, сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали хроматографией на силикагеле (MeOH-DCM, 0-30%) с получением указанного в заголовке соединения (57 мг, 58%) в виде бесцветной пленки. ЖХ/МС: $R_t=0,12$ мин; $m/z=322,0$ (M+1)

Метод 2m_кислотный.



Стадия 5: (4R,5aS,6R,8aS)-6-(метоксиметил)-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метано-пирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-ил гидросульфат натрия.

DOWEX 50Wx8 водородную форму 200-400 меш перемешивали с NaOH (2 N) в течение 3 ч, затем загружали в колонку и промывали водой до достижения pH элюента ~6, затем промывали водой-ацетоном (1:1). (4R,5aS,6R,8aS)-6-(метоксиметил)-2,8-диоксогексагидро-2H-1,4-метано-пирроло[3,4-d][1,3]дiazепин-3(4H)-илсульфат тетрабутиламмония (57 мг, 0,101 ммоль) растворяли в ацетоне-воде (1:1) и пропускали через колонку, элюируя смесью 1:1 ацетон/вода. Фракции концентрировали в вакууме и лиофилизировали с получением желаемого продукта (27 мг, 70%) в виде бесцветного порошка. ЖХ/МС: $R_t=0,41$ мин; $m/z=321,9$ (M+1)

Метод ТЗ_3m_полярный;

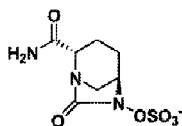
^1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ = 4,30 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 4,24 (ушир.с, 1H), 3,60-3,56 (м, 1H), 3,56-3,45 (м, 3H), 3,39 (с, 3H), 3,38-3,34 (м, 1H), 2,97 (д, $J=12,3$ Гц, 1H), 2,67 (кв., $J=8,4$ Гц, 1H), 2,64-2,56 (м, 1H), 1,72 (дд, $J=14,7, 8,4$ Гц, 1H).

Испытание чувствительности MIC определяли методом микроразведений в бульоне в соответствии с рекомендациями Clinical and Laboratories Institute (CLSI). Вкратце, свежие выращенные в течение ночи

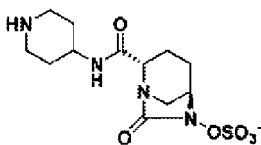
бактериальные культуры суспендировали в стерильном физиологическом растворе и доводили до стандарта мутности по Мак-Фарланду 0,5. Бактериальные суспензии затем разбавляли в бульоне Мюллера-Хинтона со стандартизированным содержанием катионов (МНВ II; BBL) с получением конечного инокулята приблизительно 5×10^5 колониеобразующих единиц (КОЕ)/мл. Контрольный планшет с антибиотиками подготавливали при концентрации, которая 100-кратно превышала наивысшую желаемую конечную концентрацию, в 100% диметилсульфоксиде (DMSO). Затем контрольный планшет с антибиотиками разбавляли путем серийного двукратного разведения с использованием многоканальной пипетки. Полученные серии разведений соединений разбавляли 1:10 стерильной водой или раствором ингибитора бета-лактамазы, полученным при концентрации, эквивалентной одиннадцатикратной конечной концентрации в деионизированной воде, получая конечную концентрацию DMSO 10%. Объем 10 мкл серии разведений лекарственного средства переносили в 96-луночные аналитические планшеты. Аналитические планшеты инокулировали 90 мкл бактериальных суспензий и инкубировали при 35°C в течение 20 ч. Аналитические планшеты считывали с использованием устройства для считывания микротитровальных планшетов (Molecular Devices) при 600 нм, а также путем визуального наблюдения с зеркальным считыванием. Самая низкая концентрация соединения, которая предотвращала видимый рост, была зарегистрирована как МИС. Правильность осуществления анализа контролировали путем тестирования азтреонама против штаммов для контроля качества лабораторных исследований в соответствии с руководящими указаниями CLSI.

Следующие ингибиторы бета-лактамазы и бета-лактамы антибиотиков указаны в следующих таблицах:

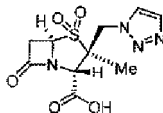
Ингибитор бета-лактамазы 1: Авибактам



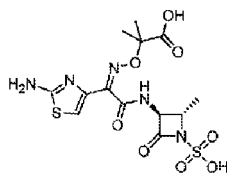
Ингибитор бета-лактамазы 2: Релебактам



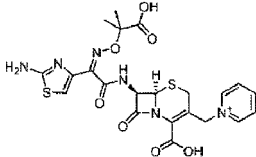
Ингибитор бета-лактамазы 3: Тазобактам



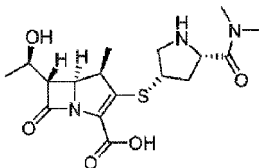
Бета-Лактам 1: Азтреонам



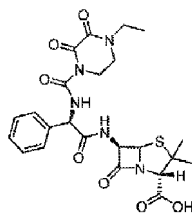
Бета-Лактам 2: Цефтазидим



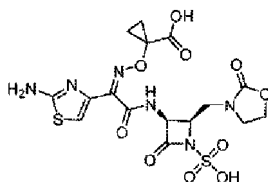
Бета-Лактам 3: Меропенем



Бета-Лактам 4: Пиперациллин



Бета-Лактам 5 (LYS228):



Синергизм с бета-лактамами при ингибировании бета-лактамаз

Синергизм или потенцирование бета-лактаменных антибиотиков при ингибировании β -лактамаз оценивали против изогенной панели штаммов *E. coli*, каждый из которых экспрессирует уникальную бета-лактамазу, и против клинических штаммов.

Конструирование изогенных штаммов *E. coli* NB27273-CDY0026 (исходный), NB27273-CDY0033 (KPC-2), NB27273-CDY0030 (SHV-12), NB27273-CDY0034 (CTX-M-15) и NB27273-CDY0036 (AmpC).

Штамм NB27273 (BW25113 *pspB::Km^r*) получали из коллекции транспозонных вставок Keio. Штамм содержит замену *pspB* гена маркером резистентности к канамицину (BW25113 *pspB::Km^r*). Из этого штамма был удален транспозон в *pspB* посредством FLP рекомбиназы с использованием опубликованной методики. Полученный штамм, BW25113 *pspB*, использовали в качестве хозяина для мультикопийных векторов, экспрессирующих ключевые бета-лактамазы. Мультикопийные плазмиды, направляющие конститутивную экспрессию бета-лактамаз, были установлены следующим образом: Синтетические, кодон-оптимизированные гены, кодирующие *E. coli* KPC-2, SHV-12 и CTX-M-15 бета-лактамазы, получали при помощи ДНК2.0 (Palo Alto, CA). Все синтетические фрагменты были сконструированы таким образом, чтобы они содержали NotI и NcoI сайты рестрикции на своих концах, обеспечивающие возможность лигирования в NotI/NcoI расщепленное pET28a(+) производное для экспрессии белка. Вставки в этих векторах служили в качестве матричной ДНК для ПЦР амплификации генов, кодирующих KPC-2, SHV-12 и CTX-M-15, с использованием пар праймеров E225 (tcgcCTCGAGg-cgactgcgctgacgaatttgg) (SEQ ID NO:1) и E202 (aatcGAATTCtactgaccattaacgccsaagc) (SEQ ID NO: 2) и E227 (tcgcCTCGAGgagcccgcaaccgctgga) (SEQ ID NO: 3) и E204 (aatcGAATTCtaacgctgccagtctcaatc) (SEQ ID NO: 4) и E226 (cgctCTCGAGagcgtcccgtgtacgcaaaacg) (SEQ ID NO: 5) и E203 (aatcGAATTCtacagaccgtcggtgacaatc) (SEQ ID NO: 6) соответственно.

Кодон-оптимизированные нуклеотидные последовательности и соответствующая информация, касающаяся распознавания праймеров, показаны ниже:

KPC-2

ATGGGCCATCATCATCATCACAGCAGCGGCTGGAAGTTCTGTTCCAGGGGCCCGC
GA CTGCGCTGA
CGAATTTGGTGGCCGAGCCGTTCCGCGAAATTGGAGCAAGATTTTGGTGGTTCGATCGGT
GTCTACGCGAT
GGACACCGGTAGCGGTGCCACCGTGAGCTACCGTGCCGAAGAGCGTTTTCCGCTGTGTA
GCTCTTTCAAG
GGTTTTCTGGCCGACCGCTGCTGGCACGCAGCCAACAGCAAGCGGGCTGTGGACAC
CCCGATCCGTT
ACGGCAAAAATGCGCTGGTCCGTGGAGCCCGATTAGCGAAAAGTACCTGACCACCGGC
ATGACGGTGGC
GGAGTTGAGCGCTGCGGCGTTTCAGTATTCGATAACGCTGCGGCAAACTCTGCTGCTGA
AAGAACTGGGC
GGTCCAGCGGGTCTGACGGCTTTCATGCGTTCATTGGCGACACCACCTTTCGCTTGG
CCGCTGGGAGC
TGGAGCTGAACAGCGCGATTCCGGGCGACGCACGTGATACGAGCAGCCCGCTGCAGTG
ACCGAGAGCCT
GCAGAAGCTGACCCTGGGCAGCGCACTGGCCGCACCGCAGCGCCAACAGTTCGTCGATT
GGCTGAAGGGT
AACACCACCGGTAACCATCGTATTCGCGCAGCGGTCCCGGCTGATTGGGCAGTTGGTGA
CAAGACTGGTA
CGTGCGGCGTTTATGGTACGGCGAATGACTACGCGGTTGTTTGGCCTACGGGTCGTGCG
CCGATCGTCCT

GGCGGTGTATACCCGTGCTCCGAACAAAGACGATAAACACTCCGAAGCGGTTCATCGCCG
CAGCAGCGCGT

CTGGCCCTGGAAGGCTTGGGCGTTAATGGTCAGTAACGCCGGCG (SEQ ID NO:7)

E225 TCGCCTCGAGCGACTGCGCTGACGAATTTGG (SEQ ID NO:8)

E202 AATCGAATTCCTACTGACCATTAACGCCCAAGC (SEQ ID NO:9)

ОБР. СРАВН. E202 GCTTGGGCGTTAATGGTCAGTAAGAATTCGATT (SEQ ID NO:10)

ПОДЧЕРКНУТО=ДНК, КОДИРУЮЩАЯ ВЛ

SHV-12

ATGGGCCATCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCCTGGAAGTTCTGTTCCAGGGGCCCCG
GAGCCCGCAACCGCTGGAGCAGATCAAGCAGTCTGAGAGCCAGCTGAGCGGCCGTGTGGGTATG
ATCGAGATGGATCTGGCTTCGGGCCGTACGCTGACGGCATGGCGTGCCGACGAACGTTTCCCGA
TGATGTCGACCTTTAAAGTTGTCTGTGTGGTGCGGTCTTGGCACGTGTAGACCGGGGTGACGA
ACAACCTGGAGCGCAAGATCCATTACCGCCAACAGGACTTGGTCGACTACAGCCCGGTTAGCGAA
AAGCACCTGGCGGATGGCATGACCGTGGGTGAATTGTGCGCCGCTGCGATTACCATGAGCGACA
ATAGCGCGGCTAATCTGCTGTTGGCGACCGTGGTGGCCAGCGGGCTTGACCGCATTTCTGCG
TCAAATCGGGGATAATGTTACCGCTCTGGATCGCTGGGAAACGGAGCTGAACGAGGCACTGCCG
GGTGATGCCCGTGATACCACGACTCCCTGCTAGCATGGCAGCGACCCTGCGTAACTGCTGACCA
GCCAGCGCTGAGCGCACGTAGCCAACGCCAGCTGCTGCAATGGATGGTGGATGACCGCGTGGC
GGGTCCGCTGATCCGCTCCGTCCTGCCAGCAGGCTGGTTCATTGCGGACAAAACCTGGTGCCTCT
AAGCGTGGTGCGCGTGGTATCGTCCGCGCTGCTGGGTCCGAACAACAAAGCCGAACGATTATTGG
TTATCTATCTGCGGACACCCCGGCAAGCATGGCCGAGCGCAACCAGCAAATTGCGGGCATTGG
TGCGGCACTGATTGAGCACTGGCAGCGTTAACGCCGGCG (SEQ ID NO:11)

E227 TCGCCTCGAGCGAGCCCGCAACCGCTGGA (SEQ ID NO:12)

E204 AATCGAATTCCTAACGCTGCCAGTGCTCAATC (SEQ ID NO:13)

REV. COMP. E204 GATTGAGCACTGGCAGCGTTAAGAATTCGATT (SEQ ID NO:14)

CTX-M-15

ATGGGCCATCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCCTGGAAGTTCTGTTCCAGGGGCCCCAG
CGTCCCGCTGTACGCACAACCGGCCGACGTGCAACAGAACTGGCGGAGTTGGAACGTCAGAGC
GGTGGCCGTTTGGGTGTAGCCCTGATCAATACCGCGGACAATAGCCAAATCTGTATCGTGCGG
ACGAACGCTTCGCGATGTGCAGCACGAGCAAGGTGATGGCCGCTGCGGCCGTTCTGAAGAAATC
CGAGAGCGAGCCGAACCTGCTGAATCAGCGCGTTGAGATCAAGAAGTCGGATCTGGTGAACAT
AACCTATCGCGGAAAAACATGTCACACGGCACCATGTCCCTGGCAGAGCTGAGCGCGGCTGCGT
TGCACTACTCTGATAACGTCGCAATGAATAAAGTATCGCACACGTCGGTGGCCAGCAAGCGT
GACCGCCTTTGCGCGTCAACTGGGCGATGAACTTTTCGCTGATCGTACCGAACCGACCCCTG
AATACGGCAATTCGGGTGATCCGCGCGACACGACGAGCCCGCTGCAATGGCACAGACCCCTGC
GCAACCTGACCCCTGGGTAAGCGCTGGGCGATAGCCAACGTCGCGCAGCTGGTTACGTGGATGAA
GGGTAACACCACCGGTGCGGCCAGCATTAAGCGGGCCTGCCGGCCAGCTGGGTTGTTGGTGAT
AAAACCTGGCTCCGGTGGTTATGGTACCACGAATGACATCGCGGTTATTTGGCCGAAGGACCGTG
CGCCGTTGATCCTGGTGACCTACTCACCCAGCCGAGCCGAAAGCTGAGICTCGCCGTGACGT
GCTGGCGAGCGCAGCTAAGATTGTCACCGACGGTCTGTAACGCCGGCG

E226 cgctCTCGAGagcgtcccgtgtacgcacaaacg (SEQ ID NO:15)

E203, aatcGAATTCttacagaccgtcggtgacaatc (SEQ ID NO:16)

Ген, кодирующий Amp^r, был ПЦР амплифицирован из генома штамма *P. aeruginosa* PAO1 (NB52019) (GenBank ID U5R279) с использованием пары праймеров E252 (gccCTCGAGggcgaggccccggcg-gatcgc) (SEQ ID NO: 17) и E253 (tgaGAATTCtagcgtctcagcgccacc) (SEQ ID NO: 18).

ПЦР продукты затем расщепляли при помощи XhoI и EcoRI и лигировали в аналогично расщепленную плазмиду pАН63-pstS (BlaP). Плазмида pАН63-pstS (BlaP) является производной плазмиды pАН63 (J Bacteriol: 183 (21): 6384-6393), полученной путем клонирования промотора TEM-1 (bla) и области, кодирующей сигнальный пептид, из плазмиды pBAD (J Bacteriol. 1995 177 (14): 4121-30) в плазмиду pАН63. Этот фрагмент был ПЦР амплифицирован из pBAD с использованием пары праймеров E192 (ttcaCTG-CAGtgaacgttgcgaagcaacggc) (SEQ ID NO: 19) и E194 (TCGAggatcctcgagagcaaaaacaggaaggcaaatgccg) (SEQ

ID NO: 20), расщеплен при помощи PstI и BamHI и вставлен в расщепленную подобным образом плазмиду pAN63. Поэтому экспрессия бета-лактамаз из конструкций на основе pAN63-pstS (BlaP) является конститутивной, и сигнальная последовательность предусматривается для направления этих белков в периплазму. Векторы на основе плазмиды pAN63 используют для вставки в геном в одной копии, однако, для обеспечения более высоких уровней для более чувствительной детекции чувствительности соединений к экспрессируемым бета-лактамазам экспрессирующие вставки, содержащиеся в этих векторах, были перенесены в репликативный мультикопийный вектор pBAD-Kan (J Bacteriol. 1995 Jul. 177 (14): 4121-30). Для этого вставки, включающие гены бета-лактамазы, со связанным промотором TEM и сигнальными последовательностями, амплифицировали с помощью ПЦР из соответствующих векторов с использованием праймера E268 (ccgTCTAGAcggatggccttttgcgttc) (SEQ ID NO: 21) и E202 (aatcGAATTcttactgaccattaacgccaagc) (SEQ ID NO: 22) для KPC2 конструкции, E204 (aatcGAATTcttaacgctgscagtgtcaatc) (SEQ ID NO: 23) для SHV-12 конструкции и E203 (aatcGAATTcttacagaccgtcggtgacaatc) (SEQ ID NO: 24) для CTX-M-15 конструкции. Эти фрагменты затем расщепляли при помощи XbaI и EcoRI и каждый вставляли в pBAD18-kan, который был расщеплен этими же ферментами с образованием мультикопийных векторов, экспрессирующих KPC-2, SHV-12 и CTX-M-15 соответственно. Эти векторы трансформировали в BW25113 pspB для генерирования штаммов NB27273-CDY0033 (экспрессирующий KPC-2), NB27273-CDY0030 (экспрессирующий SHV-12), NB27273-CDY0034 (экспрессирующий CTX-M-15) и NB27273-CDY0036 (экспрессирующий AmpC). pBAD18-kan вектор также содержит промоторную область TEM и сигнальную последовательность (но не содержит никаких интактных генов бета-лактамазы), и его трансформировали в BW25113 pspB с использованием стандартных протоколов для генерирования контрольного штамма NB27273-CDY0026. Экспрессию бета-лактамаз подтверждали путем подтверждения пониженной чувствительности к иллюстративным испытываемым антибиотикам, которые являются известными субстратами KPC-2, SHV-12, CTX-M-15 или AmpC.

Конструирование изогенных штаммов E. coli NB27273-CDY0105 (OXA-18) и NB27273-CDY0048 (TEM-10)

Плазмидный вектор для экспрессии OXA-18 конструировали следующим образом: гены, кодирующие GIM-1 (GenBank ID Q704V1) и OXA-18 (GenBank ID 007293), были синтезированы Life Technologies с 5'-tgccctctgttttgcctctcgag и gaattcgtagcccaaaaaacgg-3' (SEQ ID NO: 25) фланкирующими последовательностями. GIM-1 кодирующий фрагмент расщепляли при помощи XhoI и EcoRI и вставляли в KPC-2 экспрессирующую конструкцию, описанную выше, из которой KPC-2 кодирующий ген был удален путем расщепления при помощи XhoI и EcoRI. Подтверждающее нуклеотидное секвенирование выявило XhoI сайт в остоле вектора, который затем был удален сайт-направленным мутагенезом с использованием пары праймеров E396 (cgtcttgctccaggccgcgattaaattcc) (SEQ ID NO: 26) и E397 (tcgcgccctggagcaagacgttc) (SEQ ID NO: 27). Ген, кодирующий OXA-18, затем расщепляли при помощи XhoI и EcoRI и вставляли в этот вектор, из которого ген для GIM-1 был удален при помощи XhoI и EcoRI.

Для получения вектора, экспрессирующего TEM-10, плазмиду pBAD18 (J Bacteriol. 1995 Jul. 177(14):4121-30), которая содержит ген, кодирующий TEM-1, использовали в качестве матрицы для основанного на ПЦР сайт-направленного мутагенеза для преобразования гена, кодирующего TEM-1, в ген, кодирующий TEM-10. Из этой матричной ДНК, три фрагмента генерировали при помощи ПЦР с использованием следующих пар праймеров:

B124 (tcacgtagcगतagcgag) (SEQ ID NO: 28) и E387 (tggagccggttaagcgtgggtctcgcggt) (SEQ ID NO: 28) для генерирования фрагмента А, кодирующего E237K замену E389 (cggagaccacgcttaccggctccaga) (SEQ ID NO: 29) и E391 (ctgccttgatagttggaaccgga) (SEQ ID NO: 30) для генерирования фрагмента В, кодирующего E237K и R162S замены

E393 (cgggtcccaactatcaaggcgagt) (SEQ ID NO: 31) и E289 (gacattgccgtcactgcgtct) SEQ ID NO: 32) для генерирования фрагмента С, также вводящего R162 замену.

Фрагменты А, В и С затем использовали в качестве матрицы для генерирования полного гена, кодирующего TEM-10, следующим образом:

Фрагменты А и В использовали в качестве матрицы для ПЦР с использованием праймеров B124 (tcacgtagcगतagcgag) (SEQ ID NO: 33) и E390 (gtaactcgccttgatagttgggaaccggagctgaatgaagc) (SEQ ID NO: 34) для объединения фрагментов А и В в фрагмент D

Фрагменты В и С использовали в качестве матрицы для ПЦР с использованием праймеров E290 (cggggaccsaagccatgaca) (SEQ ID NO: 35) и E388 (accgagaccacgcttaccggctccagatttatcagcaataaac) (SEQ ID NO: 36) для объединения фрагментов В и С в фрагмент E

В завершение, фрагменты D и E использовали в качестве матрицы для ПЦР с использованием праймеров E395 (gtaaGAATTcttaaccatgcttaacagtgaggc) (SEQ ID NO: 37) E268 (ccgTCTAGAcggatggccttttgcgttc) (SEQ ID NO: 38) для объединения фрагментов D и E в интактный TEM-10 кодирующий продукт. Этот фрагмент затем расщепляли при помощи XbaI и EcoRI и вставляли в pBAD-kan, который также расщепляли этими же ферментами.

Эти конечные векторы для экспрессии OXA-18 и TEM-10 трансформировали в BW25113 pspB для генерирования штаммов NB27273-CDY0105 (экспрессирующий OXA-18) и NB27273-CDY0048 (экспрессирующий TEM-10). Экспрессию бета-лактамаз подтверждали путем подтверждения пониженной чувств-

вительности к иллюстративным испытываемым антибиотикам, которые являются известными субстратами ОХА-18 или ТЕМ-10.

Таблица А. Минимальные ингибирующие концентрации (МИС) в мкг/мл избранных ВЛІ

ВЛІ	<i>E. coli</i> АТСС 25922	<i>K. pneumoniae</i> АТСС 43816	<i>P. aeruginosa</i> АТСС 27853
Авибактам	16	32	>64
Релебактам	>64	>64	>64
Пример 1	>64	>64	>64
Пример 2	>64	>64	>64
Пример 3	>64	>64	>64
Пример 4	>64	>64	>64
Пример 5	>64	>64	>64
Пример 6	>64	>64	>64
Пример 7	>64	>64	>64
Пример 8	>64	>64	>64

Табл. 1 выше демонстрирует, что, в то время как некоторые ингибиторы бета-лактамазы, такие как авибактам, демонстрируют непосредственную антибактериальную активность, соединения формулы (А) показывают незначительную непосредственную активность.

Следующие данные демонстрируют эффект потенцирования или синергическую активность соединений по изобретению, как проиллюстрировано соединением примера 1, при использовании в комбинации с различными бета-лактамами антибиотиками. Поскольку соединение примера 1 не демонстрирует существенную непосредственную антибиотическую активность (см. табл. 1), синергизм или потенцирование определяется в настоящей заявке как четырехкратное или большее снижение МИС бета-лактаманного антибиотика, вызванное присутствием соединения формулы (А), по сравнению с бета-лактаманым антибиотиком, используемым отдельно. Предпочтительно, комбинации по изобретению демонстрируют по меньшей мере 8-кратное снижение МИС по сравнению с бета-лактаманым антибиотиком, используемым отдельно.

Потенцирование активности (МИС в мкг/мл) азтреонама ингибиторами бета-лактамазы в изогенных штаммах *E. coli*, экспрессирующих отдельные бета-лактамазы

АЗТРЕОНАМ (AZ)	<i>E. coli</i> (KPC- 2)	<i>E. coli</i> (TEM- 10)	<i>E. coli</i> (SHV- 12)	<i>E. coli</i> (CTX- M-15)	<i>E. coli</i> (AmpC)	<i>E. coli</i> (OXA- 18)
AZ отдельно	64	64	>64	64	4	>64
AZ+Пр. 1 (2 мкг/мл)	0,125	0,125	0,25	≤0,06	0,125	1
AZ +Авибактам (2 мкг/мл)	0,125	0,25	1	0,125	≤0,06	1
AZ+Релебактам (2 мкг/мл)	1	2	32	0,5	0,125	>64

Потенцирование активности (МИС в мкг/мл) цефтазида ингибиторами бета-лактамазы в изогенных штаммах *E. coli*, экспрессирующих отдельные бета-лактамазы.

ЦЕФТАЗИДИМ (Ceft)	<i>E. coli</i> (KPC- 2)	<i>E. coli</i> (TEM- 10)	<i>E. coli</i> (SHV- 12)	<i>E. coli</i> (CTX- M-15)	<i>E. coli</i> (AmpC)	<i>E. coli</i> (OXA- 18)
Цефтазидим отдельно	4	>64	>64	16	4	>64
Ceft+Пр. 1 (2 мкг/мл)	0,125	0,25	0,25	0,25	0,25	0,5
Ceft+Авибактам (2 мкг/мл)	0,25	1	0,5	0,25	0,125	0,5
Ceft+Релебактам (2 мкг/мл)	0,25	8	8	0,5	0,125	>64

Потенцирование активности (МИС в мкг/мл) меропенема ингибиторами бета-лактамазы в изогенных штаммах *E. coli*, экспрессирующих отдельные бета-лактамазы

Меропенем (Mero)	<i>E. coli</i> <i>li</i> (KPC-2)	<i>E. coli</i> <i>i</i> (TEM-10)	<i>E. coli</i> <i>i</i> (SHV-12)	<i>E. coli</i> <i>i</i> (CTX-M-15)	<i>E. coli</i> <i>i</i> (AmpC)	<i>E. coli</i> <i>i</i> (OXA-18)
Меро отдельно	1	≤0,06	≤0,06	≤0,06	≤0,06	≤0,06
Меро+Пр. (2мкг/мл)	1	≤0,06	≤0,06	≤0,06	≤0,06	≤0,06
Меро+Авибактам (2мкг/мл)		≤0,06	≤0,06	≤0,06	≤0,06	≤0,06
Меро+Релебактам (2мкг/мл)		≤0,06	≤0,06	≤0,06	≤0,06	≤0,06

Потенцирование активности (МИС в мкг/мл) пиперациллина ингибиторами бета-лактамазы в изогенных штаммах *E. coli*, экспрессирующих отдельные бета-лактамазы

Пиперациллин (Pip)	<i>E. coli</i> <i>li</i> (KPC-2)	<i>E. coli</i> <i>i</i> (TEM-10)	<i>E. coli</i> <i>i</i> (SHV-12)	<i>E. coli</i> <i>i</i> (CTX-M-15)	<i>E. coli</i> <i>i</i> (AmpC)	<i>E. coli</i> <i>i</i> (OXA-18)
Pip Отдельно	>32	>32	>32	>32	>32	>32
Pip+Тазобактам (4 мкг/мл)	(4)	>32	4	32	4	8
Pip+Авибактам (2 мкг/мл)	(2)	4	2	4	4	4
Pip+Релебактам (2 мкг/мл)	(2)	4	>32	>32	16	4
Pip+Пр. (1 мкг/мл)	1	(2)	4	2	2	8
Pip+Пр. (2 мкг/мл)	2	(2)	2	4	4	4
Pip+Пр. (3 мкг/мл)	3	(2)	2	4	4	8
Pip+Пр. (4 мкг/мл)	4	(4)	2	4	4	2
Pip+Пр. (5 мкг/мл)	5	(4)	1	2	2	2
Pip+Пр. (6 мкг/мл)	6	(4)	2	4	4	4
Pip+Пр. (7 мкг/мл)	7	(2)	2	2	4	4
Pip+Пр. (8 мкг/мл)	8	(4)	4	4	4	2

Потенцирование активности (мкг/мл) Бета-Лактам 5 ингибиторами бета-лактамазы в изогенных штаммах *E. coli*, экспрессирующих отдельные бета-лактамазы

Бета-Лактам 5 (5)	<i>E. coli</i> (KPC-2)	<i>E. coli</i> <i>i</i> (TEM-10)	<i>E. coli</i> <i>i</i> (SHV-12)	<i>E. coli</i> <i>i</i> (CTX-M-15)	<i>E. coli</i> <i>i</i> (AmpC)	<i>E. coli</i> <i>i</i> (OXA-18)
Бета-Лактам отдельно	5	0,25	2	0,5	0,125	0,25
5+Пр. (1 мкг/мл)	1	0,25	0,125	0,25	0,25	0,25
5+Авибактам (2 мкг/мл)	(2)	0,125	0,125	0,125	0,25	0,125
5+Релебактам (2 мкг/мл)	(2)	0,125	0,25	0,125	0,25	0,25

Потенцирование активности (мкг/мл) азтреонама ингибиторами бета-лактамазы в бета-лактам-резистентных клинических изолятах

АЗТРЕОНАМ	<i>K. pneumoniae</i> NB29323 (СТХ-М-15, ОКСА-48, ВЕВ-1)	<i>Enterobacter cloacae</i> NE25044 (СТХ-М-12, АСТ, КРС-2)
Азтреонам отдельно	>64	>64
AZ+Пр. 1 (2 мкг/мл)	0,25	4
AZ+Авибактам (2 мкг/мл)	2	8
AZ+Релебактам (2 мкг/мл)	8	>64

Потенцирование активности (мкг/мл) Пиперациллина ингибиторами бета-лактамазы в бета-лактам-резистентных клинических изолятах

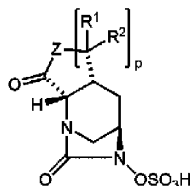
ПИПЕРАЦИЛЛИН	<i>K. pneumoniae</i> NB29082 (КРС-2)	<i>Enterobacter cloacae</i> NB25055 (СМУ-2)	<i>S. aureus</i> NB01437 (BL A+)
Пиперациллин	>64	>64	64
Pip+Тазобактам (4 мкг/мл)	>64	64	1
Pip+Пр. 1 (2 мкг/мл)	8	4	1

Эти данные демонстрируют, что потенцирующий эффект соединений по изобретению является аналогичным или превосходит эффект некоторых используемых в клинике ингибиторов бета-лактамаз при использовании в комбинации с коммерческими бета-лактамными антибиотиками для лечения инфекций, вызываемых бактериями, которые резистентны к некоторым известным бета-лактамным антибиотикам.

Специалистам в данной области техники должно быть очевидно или они смогут установить с использованием не более чем рутинного экспериментирования множество эквивалентов конкретных вариантов осуществления и способов, описанных в настоящей заявке. Такие эквиваленты предусматриваются как охватываемые объемом следующей формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (A)



где p имеет значение 1 или 2;

R^1 и R^2 независимо выбраны из H и C_1 - C_4 -алкила, необязательно замещенного -OR;

Z представляет собой NR^3 ;

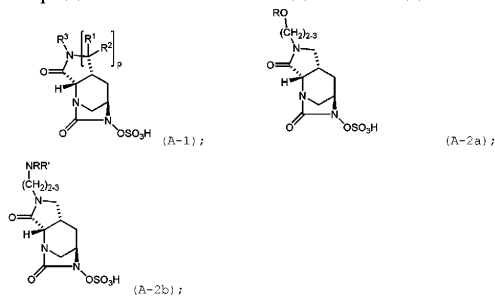
R^3 в каждом случае независимо выбран из H, Су и C_1 - C_4 -алкила, необязательно замещенного -OR или -NRR';

Су представляет собой C_3 - C_6 -циклоалкильное кольцо и

R и R' независимо выбраны из H и C_1 - C_4 -алкила;

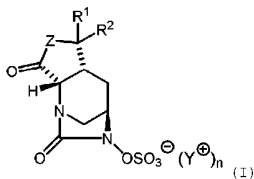
или его солевая или цвиттер-ионная форма.

2. Соединение по п.1, которое представляет собой соединение одной из следующих формул:



или его солевая или цвиттер-ионная форма.

3. Соединение по п.1, которое представляет собой соединение формулы (I)



где

R¹ и R² независимо выбраны из H и C₁-C₄-алкила, необязательно замещенного -OR;

Z представляет собой NR³;

R³ в каждом случае независимо выбран из H, Су и C₁-C₄-алкила, необязательно замещенного -OR или -NRR';

Су представляет собой C₃-C₆-циклоалкильное кольцо и

R и R' независимо выбраны из H и C₁-C₄-алкила;

Y представляет собой катионную группу;

n имеет значение 0 или 1; и

когда n имеет значение 0, соединение формулы I находится в цвиттер-ионной форме.

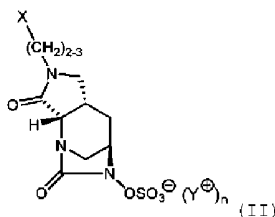
4. Соединение по п.1 или 3, где Z представляет собой NR³ и R³ представляет собой H или C₁-C₄-алкил, необязательно замещенный -OR или -NRR', или его солевая или цвиттер-ионная форма.

5. Соединение по п.4, где R³ представляет собой C₁-C₂-алкил, необязательно замещенный -OR или -NRR', или его солевая или цвиттер-ионная форма.

6. Соединение по п.4, где R³ представляет собой H, или его солевая или цвиттер-ионная форма.

7. Соединение по любому из пп.1-3, где R¹ и R², оба, представляют собой H, или его солевая или цвиттер-ионная форма.

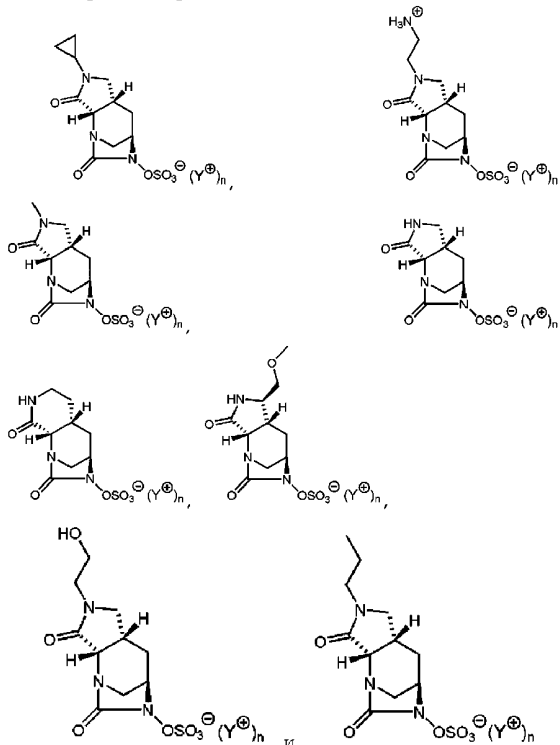
8. Соединение по п.1 или 3, которое имеет структуру



где X представляет собой -OR или -NRR';

в виде его солевой или цвиттер-ионной формы.

9. Соединение по п.1 или 3, которое выбрано из



и их солевых или цвиттер-ионных форм.

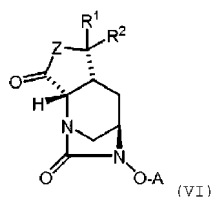
10. Соединение п.3, где n имеет значение 1 и Y выбран из натрия, калия, аммония, кальция, магния,

железа, серебра, цинка и меди.

11. Соединение по п.3, где Y представляет собой натрий.

12. Соединение по любому из пп.1-3, которое находится в фармацевтически приемлемой солевой или цвиттер-ионной форме.

13. Соединение формулы (VI)



где

R¹ и R² независимо выбраны из H и C₁-C₄-алкила, необязательно замещенного -OR;

Z представляет собой NR³;

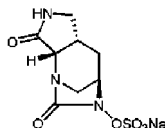
R³ в каждом случае независимо выбран из H, Су и C₁-C₄-алкила, необязательно замещенного -OR или -NRR';

Су представляет собой C₃-C₆-циклоалкильное кольцо и

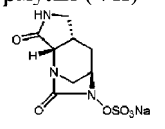
R и R' независимо выбраны из H и C₁-C₄-алкила;

A представляет собой H или -CH₂-Ph, где Ph представляет собой фенил, необязательно замещенный одной или двумя группами, выбранными из галогена, C₁-C₄-алкила, C₁-C₄-алкокси; или его соль.

14. Соединение формулы (VII)



15. Кристаллическая форма соединения формулы (VII)



характеризующаяся пиками на XRPD при углах дифракции (2Тета) 8,3 и 16,6°.

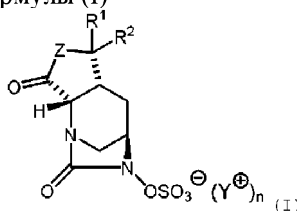
16. Соединение по п.15, которое демонстрирует эндотерму на термограмме дифференциальной сканирующей калориметрии между 283 и 350°C.

17. Соединение по п.15, дополнительно характеризующееся одним или более дополнительными пиками на XRPD при углах дифракции (2Тета) 25,1 или 31,3°.

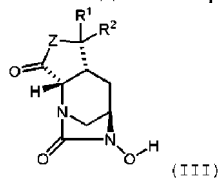
18. Соединение по п.17, дополнительно характеризующееся одним или более дополнительными пиками на XRPD при углах дифракции (2Тета) 27,4 или 28,7°.

19. Соединение по п.18, дополнительно характеризующееся дополнительными пиками на XRPD при углах дифракции (2Тета) 19,5 или 21,7°.

20. Способ получения соединения формулы (I)



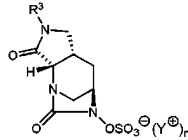
по п.3, где способ включает контактирование соединения формулы (III)



где Z, R¹ и R² и R³ такие, как определено в п.3, с сульфонилирующим агентом в присутствии основания.

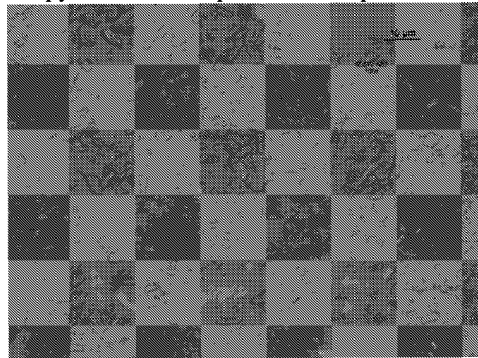
21. Способ по п.20, где Z представляет собой NR³ и R³ представляет собой H или C₁-C₂-алкил, необязательно замещенный -OR или -NRR'.

22. Способ по п.20 или 21, где соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы



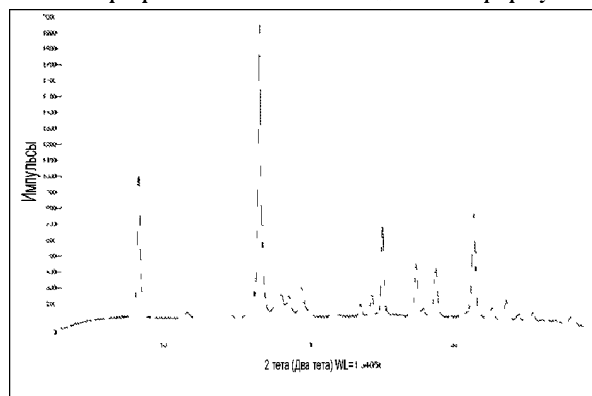
23. Способ по любому из пп.21, 22, где R³ представляет собой H.
24. Фармацевтическая композиция, обладающая антибактериальной активностью, содержащая соединение по любому из пп.1-19 и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент.
25. Способ лечения грамотрицательной бактериальной инфекции, который включает введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, соединения по любому из пп.1-19.
26. Способ по п.25, где бактериальная инфекция вызвана видом бактерий Burkholderia, Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Morganella, Moraxella, Providencia, Pseudomonas, Proteus, Salmonella, Serratia, Acinetobacter, Bacteroides, Prevotella, Campylobacter, Neisseria, Haemophilus или Stenotrophomonas.
27. Способ по п.25 или 26, где бактериальная инфекция представляет собой нозокомиальную пневмонию, интраабдоминальную инфекцию или инфекцию мочевыводящих путей, вызываемую видом Enterobacteriaceae или Pseudomonas.
28. Применение соединения по любому из пп.1-19 в лечении грамотрицательной бактериальной инфекции.
29. Применение по п.28, где грамотрицательная бактериальная инфекция вызвана видом Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Morganella, Moraxella, Providencia, Pseudomonas, Proteus, Salmonella, Serratia, Acinetobacter, Bacteroides, Prevotella, Campylobacter, Neisseria или Stenotrophomonas.
30. Фармацевтическая комбинация, содержащая соединение по любому из пп.1-19 и бета-лактамы антибиотик.
31. Способ лечения субъекта, имеющего грамотрицательную бактериальную инфекцию, который включает введение субъекту эффективного количества бета-лактамы антибиотика и соединения формулы (A) по любому из пп.1-19.
32. Способ по п.31, где соединение формулы (A) вводят в количестве, эффективном для потенцирования антибактериальной активности бета-лактамы антибиотика.

Изображение кристаллической формы соединения формулы (VII), полученное с использованием сканирующего электронного микроскопа

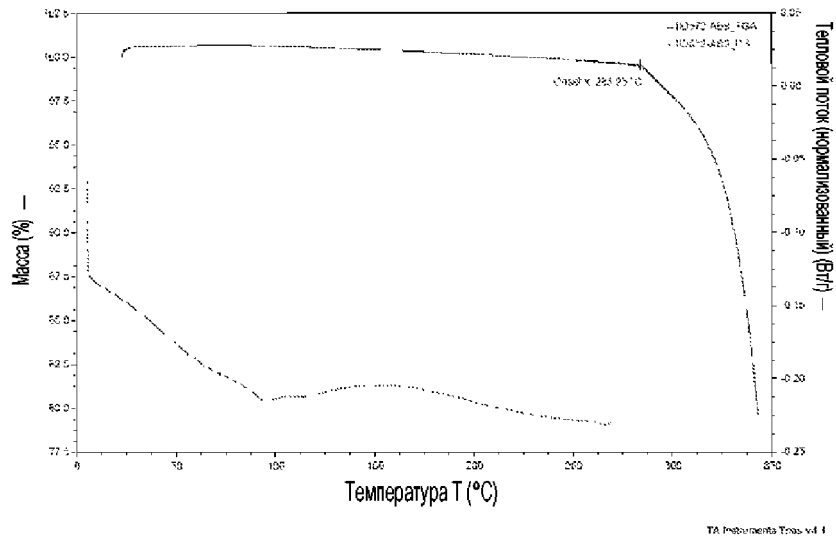


Фиг. 1

XRPD спектр кристаллического соединения формулы (VII)



Фиг. 2

Термогравиметрический анализ и DSC кристаллического соединения формулы (VII)
Наложение 2

DSC: нижний график

TGA: верхний график

Фиг. 3

