



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 123833

(13) C2

(51) МПК

C07D 519/06 (2006.01)

C07D 471/18 (2006.01)

A61K 31/535 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

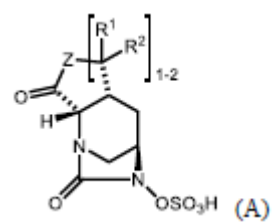
(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2019 00256	(72) Винахідник(и):	Кесейріз Ентоні (US), Фурегаті Маркус (CH), Кох Гвідо (CH), Лінь Сяодун (US), Оссола Флавіо (CH), Рек Фолькерт (US), Сіммонс Роберт Лоуелл (US), Чжу Цінмін (US)
(22) Дата подання заявки:	28.09.2017	(73) Володілець (володільці):	НОВАРТИС АГ, Lichtstrasse 35, 4056 Basel, Switzerland (CH)
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності:	10.06.2021	(74) Представник:	Шпакович Тетяна Іванівна, реєстр. №240
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	62/401,022	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	WO 2009091856, A2, 23.07.2009 TRANQUILLINI M. E. et al. Synthesis and antimicrobial activity of 4-amino trinems// BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, (19960723), vol. 6, no. 14, pages 1683–1688 BONNEFOY ALAIN et al. In vitro activity of AVE1330A, an innovative broad-spectrum non-.beta.-lactam .beta.-lactamase inhibitor// JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY, vol. 54, no. 2, (20040101), pages 410-417
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	28.09.2016		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	US		
(41) Публікація відомостей про заявку:	10.06.2019, Бюл.№ 11		
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію:	09.06.2021, Бюл.№ 23		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/IB2017/055973, 28.09.2017		

(54) ІНГІБІТОРИ БЕТА-ЛАКТАМАЗ**(57) Реферат:**

Винахід належить до сполук формули (A), як додатково розкрито у описі, які діють як інгібітори бета-лактамази, та їх солей, кристалічних форм та композицій. Даний винахід також стосується способів, що використовують дані сполуки у комбінації з бета-лактамним антибіотиком для лікування інфекцій, викликаних грам-негативними бактеріями, включаючи резистентні до лікарських засобів штами.

UA 123833 C2



Перехресні посилання на споріднені заявки

По даній заявці заявляється пріоритет до попередньої заявки U.S. № 62/401,022, поданої 28 вересня 2016 р., яка у всій своїй повноті включена у даний винахід як посилання.

Галузь техніки, до якої відноситься винахід

5 Даний винахід відноситься до сполук, які інгібують бета-лактамази, до способів одержання зазначених сполук та до їх застосування у комбінації з бета-лактамними антибіотиками для лікування бактеріальних інфекцій.

Рівень техніки

10 Протягом останніх декількох десятиліть зростає із викликаючими занепокоєння темпами частота виникнення резистентності до протимікробних препаратів та її взаємозв'язок із серйозними інфекційними захворюваннями. Особливо насторожує зростаюче поширення резистентності серед нозокоміальних патогенів. З більше 2 мільйонів нозокоміальних інфекцій, що виникають кожен рік у США, від 50 до 60 % викликані штамами бактерій, що мають резистентність до протимікробних препаратів. Високий ступінь резистентності до широко
15 використовуваних антибактеріальних засобів збільшує частоту ускладнень, смертність та витрати, пов'язані з нозокоміальними інфекціями. Вважають, що у США нозокоміальні інфекції сприяють або викликають більш ніж 77000 смертних випадків на рік, та витрати на боротьбу з ними становлять приблизно від 5 до 10 мільярдів доларів щорічно.

20 Серед найбільш важливих антибіотиків, які наразі доступні, є деякі класи сполук, які містять бета-лактамне кільце, включаючи пеніциліни, пенеми, карбапенеми, цефалоспорини, монобактами та сульфактами. Ці бета-лактамні антибіотики інгібують біосинтез стінки клітини шляхом зв'язування з білками, які називаються пеніцилін-зв'язуючими білками (PBP), які є важливими для синтезу пептидоглікану, основного компоненту стінок клітин грам-негативних та
25 грам-позитивних бактерій. У той час як бета-лактамні антибіотики залишаються надзвичайно важливими у всьому світі, їх широке застосування привело до великої та прогресуючої проблеми: бактерії розвили резистентність до бета-лактамів, також як і до більшості інших доступних антибіотиків. У зв'язку з цим Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) говорить, що резистентність до антибіотиків несе "серйозну всесвітню загрозу ..."

30 Було визначено декілька різних механізмів резистентності до бета-лактамних антибіотиків: деякі резистентні штами мають ефлюксні насоси для виведення антибіотику, та інші розвивають мутантні PBP, які є менш чутливими до антибіотику. Особливо насторожуючою формою резистентності є розвиток бактеріальних ферментів, які реагують з цими антибіотиками, руйнуючи антибіотик шляхом відкривання бета-лактамного кільця. Ці розкладаючі антибіотик ферменти називаються бета-лактамазами, та вони є особливо проблематичними, тому що вони
35 можуть надавати резистентність до багатьох різних бета-лактамних антибіотиків, та вони можуть бути перенесені через плазмідні між різними штамами та видами бактерій. Серед грам-негативних бактерій існує чотири класи бета-лактамаз, серінові бета-лактамази класів A, C та D, та метало-бета-лактамази (клас B).

40 Важливі причини резистентності до бета-лактамних антибіотиків включають бета-лактамази розширеного спектру (ESBL), серінові карбапенемази класу A, (наприклад, KPC-2) та класу D (наприклад, OXA-48) у *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* та *Proteus mirabilis*, а також резистентність високого рівня проти цефалоспоринів третього покоління, що опосередковується бета-лактамазою класу C AmpC, серед видів *Enterobacter* та *Citrobacter freundii*, та штами із множинною лікарською резистентністю *Pseudomonas*, *Acinetobacter* та *Stenotrophomonas*.
45 Проблема антибактеріальної резистентності ускладнюється існуванням штамів бактерій, що містять множинні бета-лактамази. Наприклад, *Klebsiella pneumoniae*, що містить NDM-1 метало-бета-лактамазу, часто несе додаткові серін-бета-лактамази на тій же плазміді, що несе NDM-1.

50 Так як бета-лактамні антибіотики є одним з декількох класів, які є ефективними проти грам-негативних бактерій, було витрачено багато зусиль для посилення їх здатності контролювати резистентні штами бактерій для того, щоб уникнути втрати цих надзвичайно цінних антибактеріальних засобів. Наприклад, деякі бета-лактами були модифіковані структурно для того, щоб зробити їх менш сприйнятливими до бета-лактамаз, хоча цей підхід ускладнюється тим фактом, що вже існує багато різних бета-лактамаз, та постійно з'являються нові. Існує
55 інший підхід для інгібування бета-лактамазних ферментів, які розкладають ці антибіотики шляхом застосування низькомолекулярного інгібітору бета-лактамази (BLI) у комбінації з бета-лактамним антибіотиком. Ці BLI можуть бути використані у комбінації із схваленим бета-лактамним антибіотиком для лікування пацієнтів, інфікованих бактеріями, які є резистентними до антибіотику, що використовують окремо, завдяки бета-лактамазній активності. Приклади схвалених BLI включають клавуланову кислоту, сульбактам, тазобактам та авібактам. Інші
60 (релебактам, ваборбактам (RPX7009), зидебактам та накубактам) являють собою такі, які

представлені у поясненні.

У грам-позитивних організмів резистенція до пеніциліну, опосередкована бета-лактамазами пеніциліназного типу, є важливим механізмом резистентності у *Staphylococcus aureus* (MSSA). Бета-лактамаза-опосередкована резистентність до пеніцилінів також знайдена у анаеробних видах, таких як бактероїди.

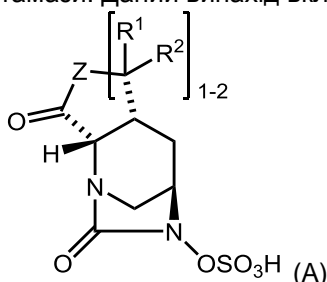
Три найбільш широко використовувані серінові інгібітори бета-лактамази, клавуланова кислота, тазобактам та сульбактам, мають сильну активність тільки проти деяких бета-лактамаз класу А, за виключенням серінових карбапенемаз. Авібактам являє собою члена діазабіциклооктанового (DBO) класу інгібіторів бета-лактамази та має широке покриття класу А (включаючи КРС), класу С та деяке інгібування класу D. Одночасно з інгібуванням бета-лактамаз, авібактам також має антибактеріальну активність проти деяких клінічних штамів через інгібування пеніцилін-зв'язуючого білку 2 (PBP-2) (Asli et al, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60, No 2, 752, 2016). Антибактеріальні сполуки з їх механізмом дії, включаючи DBO, вибирають, виходячи з резистентності при дуже високих частотах *in vitro* (Douni et al, *J. Antimicrobial Chemotherapy* 2016, 71, 2810-2814). Через це, будь-яка потенційна клінічна користь дійсної антибактеріальної активності деяких DBO інгібіторів бета-лактамаз наразі не зрозуміла. Слабка антибактеріальна активність авібактаму може не бути клінічно відповідною, так як клінічна доза авібактаму є достатньо низькою, однак, вона може ускладнювати *in vitro* чутливість та/або промотувати резистентність. *In vitro* тест на чутливість комбінацій авібактам/бета-лактамаз проти клінічних ізолятів, як правило, проводять, використовуючи високу фіксовану концентрацію авібактаму (4 мкг/мл), яка очевидно не відбиває клінічно досягнуті рівні. Прямий внесок авібактаму у антибактеріальну активність за цих штучних умов *in vitro* дослідження може впливати на точність у прогнозуванні клінічної ефективності комбінацій авібактам/бета-лактамаза. DBO інгібітор бета-лактамази, позбавлений значної антибактеріальної активності, не буде мати цієї надмірної незрозумілої активності, та протоколи *in vitro* дослідження будуть вимірювати тільки зворотну реакцію опосередкованої бета-лактамазою резистентності у клінічних ізолятах, що дозволяє отримати більш точний прогноз клінічної ефективності на основі результатів *in vitro* чутливості.

На додаток до BLI, які наразі доступні для застосування, інші сполуки з BLI активністю розкриті у WO2002/100860, US2003/0199541, US2004/0157826, WO2008/039420, та WO2009/091856, US2010092443, WO2010/126820, WO2013/122888, WO2013/038330, US2013/0225554, WO2013149121, WO2013149136, WO2014141132 та WO2014/033560.

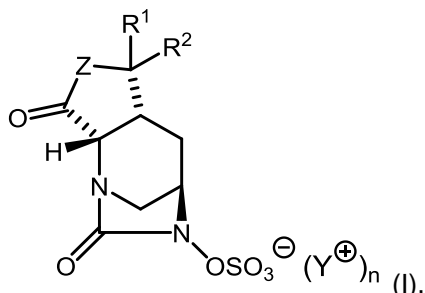
Фармакокінетичні та фізичні властивості попередньо описаних BLI можуть не бути ідеальними для застосування з кожним бета-лактамним антибіотиком. Більше того, відомі BLI, як повідомлялось, втрачають з часом ефективність (K. Bush, *Int. J. Antimicrob. Agents* 46(5), 483-93 (Nov 2015)), через розвинення резистентних бактеріальних штамів та постійно з'являються нові бета-лактамазні ферменти. Відповідно, залишається потреба у нових інгібіторах бета-лактамаз для розширення корисності цінних бета-лактамних антибіотиків; більше того, нові BLI також можуть боротися з резистентністю до відомих BLI, а також резистентністю до відомих та розроблених у майбутньому бета-лактамних антибіотиків. Даний винахід забезпечує нові інгібітори бета-лактамази, які потенціюють активність різних бета-лактамних антибіотиків, у той час як вони показують невелику дійсну (пряму) їх власну антибіотичну активність.

Короткий опис винаходу

Даний винахід включає нові BLI сполуки, фармацевтичні комбінації та композиції, що включають ці сполуки, та способи застосування цих сполук та композицій для лікування пацієнтів з бактеріальними інфекціями. BLI використовують у комбінації з бета-лактамним антибіотиком, наприклад, таким як похідні пеніциліну, пенем, карбапенем, цефалоспорин (цефем), монобактам або сульфактам, та у першу чергу є корисними для лікування грам-негативних бактеріальних інфекцій, але також є корисними для лікування грам-позитивних та анаеробних інфекцій, де резистентність опосередковується продукуванням бактеріями бета-лактамази. Даний винахід включає сполуки Формули (A) та їх варіанти,



та солі цих сполук, включаючи сполуки Формули (I):



де сполуки Формули (I) можуть бути у формі солі або цвітеріону, як додатково розкрито у цьому описі.

- 5 BLI сполуки даного винаходу використовують у комбінації з бета-лактамним антибіотиком, приклади яких розкриті у цьому описі, для лікування бактеріальних інфекцій, особливо грам-негативних бактеріальних інфекцій. BLI та бета-лактамний антибіотик можуть бути введені разом або окремо, та BLI посилює ефективність бета-лактамного антибіотику проти щонайменше одного бактеріального штаму, що показує резистентність до бета-лактамних
- 10 антибіотиків, де резистентність опосередковується бета-лактамазною активністю. Комбінації бета-лактамного антибіотику та BLI Формули (A) можуть бути використані для лікування інфекцій, викликаних грам-негативними бактеріями, включаючи Enterobacteriaceae, такі як Salmonella, E. coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus, Enterobacter, Serratia, та Citrobacter, неферментуючими бактеріями, включаючи Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter, Burkholderia,
- 15 Moraxella та Stenotrophomonas, грам-позитивними бактеріями, такими як виробляюча бета-лактамазу Staphylococcus aureus, а також анаеробними бактеріями, такими як Bacteroides fragilis або Bacteroides thetaiotaomicron.

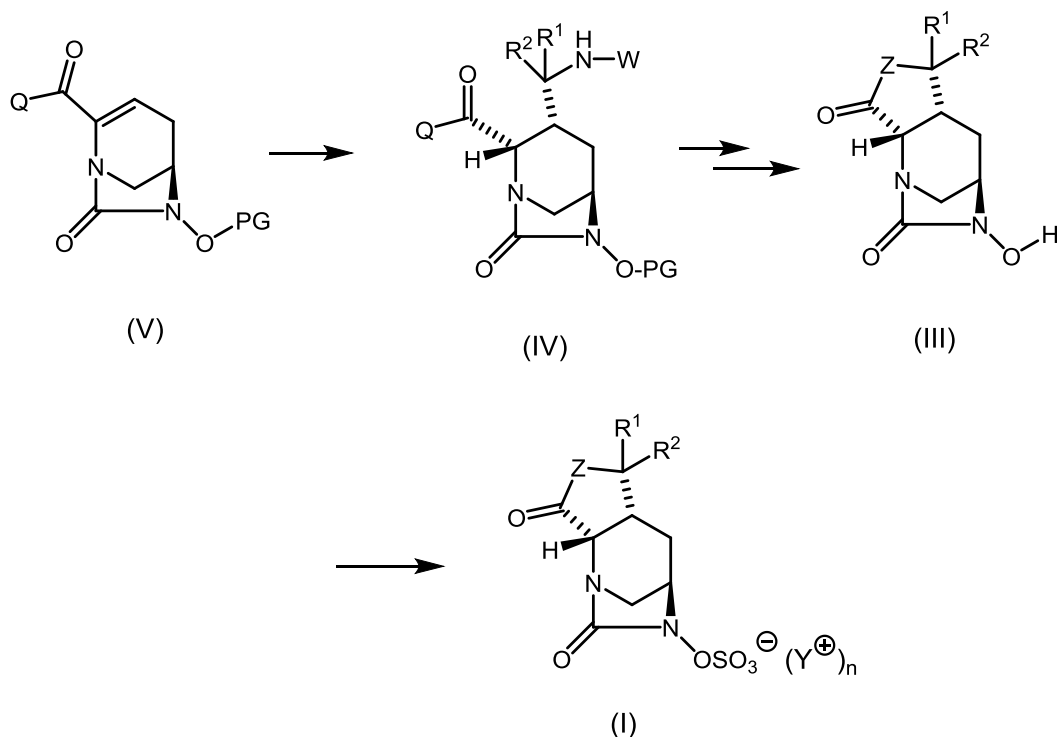
У одному аспекті, даний винахід забезпечує нові сполуки Формули (A) та Формули (I), включаючи їх сольову або цвітеріонну форми, які є ефективними як інгібітори однієї або більше

20 бактеріальних бета-лактамаз. Ці сполуки є корисними для потенціювання антибактеріальної активності бета-лактамного антибіотику. Таким чином, вони можуть використовуватися у комбінації з бета-лактамним антибіотиком. BLI та бета-лактамний антибіотик можуть бути введені разом або окремо; у деяких варіантах втілення, BLI Формули (A) або Формули (I) та бета-лактамний антибіотик об'єднують у фармацевтичну композицію, яка, як правило, також

25 включає щонайменше один фармацевтично прийнятний носій.

У одному аспекті, даний винахід забезпечує способи одержання сполук Формули (A) або Формули (I) та нових прекурсорів, корисних для одержання сполук Формули (A) або Формули (I), як розкрито у цьому описі. Зокрема, даний винахід забезпечує спосіб перетворення сполуки Формули (V) у сполуку Формули (IV); та спосіб перетворення сполуки Формули (III) у сполуки

30 Формули (I).



У іншому аспекті, даний винахід забезпечує фармацевтичні композиції, які включають сполуку Формули (A) та Формули (I), змішану з щонайменше одним фармацевтично прийнятним носієм або наповнювачем. У деяких варіантах втілення, зазначена композиція включає два або більше таких носіїв або наповнювачів. Необов'язково, зазначена фармацевтична композиція додатково включає бета-лактамний антибіотик, хоча BLI сполука може бути сформульована та введена окремо від бета-лактамного антибіотику.

У іншому аспекті, даний винахід забезпечує спосіб лікування суб'єкта, який має бактеріальну інфекцію, який включає введення суб'єкту, якому це необхідно, антибактеріально ефективної кількості бета-лактамного антибіотику та ефективної кількості BLI Формули (A) або Формули (I), включаючи сольові та цвітеріонні форми, необов'язково у комбінації з фармацевтично прийнятним носієм. У певних варіантах втілення, суб'єкт являє собою ссавця, та у деяких варіантах втілення, суб'єкт являє собою людину. Цей аспект забезпечує сполуку Формули (A) або Формули (I), включаючи фармацевтично прийнятні сольові або цвітеріонні форми, для застосування у лікуванні бактеріальної інфекції, де зазначену сполуку використовують у комбінації з бета-лактамним антибіотиком. Він також включає застосування сполуки Формули (A) або Формули (I), або її сольової або цвітеріонної форми, у виробництві лікарського засобу. Переважно, лікарський засіб являє собою засіб для застосування у лікуванні грам-негативної бактеріальної інфекції, особливо такої, що має бета-лактамазну активність, достатню для надання деякого рівня резистентності до бета-лактамного антибіотику, де лікарський засіб є адаптованим для застосування у комбінації з бета-лактамним антибіотиком, таким як ті, що описані у цьому описі. Бета-лактамний антибіотик та BLI сполука Формули (A) або Формули (I) можуть бути введені одночасно або окремо та у будь-якому порядку, за умови, що BLI присутній *in vivo* одночасно з бета-лактамним антибіотиком, для того, щоб потенціювати ефективність бета-лактамного антибіотику.

Грам-негативні бактерії можуть бути бактеріями роду, вибраного з *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bacteroides*, *Burkholderia*, *Campylobacter*, *Neisseria*, та *Stenotrophomonas*. Зокрема, бактеріальна інфекція, викликана видами *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Pseudomonas* або *Acinetobacter*, може лікуватися за способами, розкритими у цьому описі. Певні види бактерій для такого лікування включають *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella species*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, та *Acinetobacter baumannii*, а також *Bacteroides fragilis*, *Burkholderia cepacia*, *Campylobacter jejuni*, *Neisseria gonorrhoeae* та *Stenotrophomonas maltophilia*. Грам-позитивні бактерії можуть являти собою, наприклад, *Enterococcus faecalis*,

Enterococcus faecium, *Staphylococcus aureus* або *Streptococcus pneumoniae*.

У іншому аспекті, даний винахід забезпечує спосіб інгібування росту бактерій або модулювання вірулентності бактеріальної інфекції, де зазначений спосіб включає введення пацієнту, якому необхідне таке інгібування, сполуки Формули (A) або Формули (I) та бета-лактаманного антибіотику. Підходящі бета-лактаманні антибіотики для застосування у цих способах розкриті у цьому описі.

Забезпечуються фармацевтичні композиції відповідно до даного винаходу, які включають будь-яку зі сполук, розкритих у цьому описі, та фармацевтично прийнятний носій. У деяких варіантах втілення композиція включає додатковий терапевтичний агент, такий як бета-лактаманний антибіотик.

У цьому описі розкриваються інші аспекти даного винаходу.

Короткий опис фігур

Фігура 1. SEM кристалічної сполуки Формули (VII).

Фігура 2. XRPD кристалічної сполуки Формули (VII).

Фігура 3. Термогравіметричний аналіз (TGA) та диференційна скануюча калориметрія (ДСК) кристалічної сполуки Формули (VII).

Детальний опис

З метою тлумачення цієї заявки, застосовуються наведені далі визначення, якщо не зазначено інакше, або вони однозначно не суперечать контексту. Коли це можливо, терміни, використовувані у формі однини, можуть також включати форму множини та навпаки.

Визначення

Використовувані у винаході терміни мають наведені далі значення.

Використовуваний у винаході термін "суб'єкт" відноситься до тварини. У конкретних аспектах, тварина являє собою ссавця. "Суб'єкт" також відноситься, наприклад, до приматів (наприклад, людей), корів, овець, кіз, коней, собак, кішок, кроликів, щурів, мишей, риб, птахів та інших подібних тварин. У конкретних варіантах здійснення, суб'єкт являє собою людину.

Використовуваний у винаході термін "інгібування" відноситься до полегшення або пригнічення даного стану, симптому або розладу або захворювання, або до значного зменшення вихідної активності біологічного впливу або процесу, або до зниження життєздатності, числа або темпів приросту бактеріальної популяції.

Використовуваний у винаході термін "лікування" будь-якого захворювання або розладу відноситься, у одному варіанті здійснення, до полегшення захворювання або розладу (тобто уповільнення або пригнічення або зменшення розвитку захворювання або, щонайменше, одного з його клінічних симптомів). У іншому варіанті здійснення "лікування" відноситься до полегшення або поліпшення, щонайменше, одного фізичного параметру, у тому числі параметру, який пацієнт може не відчувати. У ще одному варіанті здійснення, "лікування" відноситься до модулювання захворювання або розладу, або фізично, (наприклад, стабілізацією симптому, що відчувається), фізіологічно (наприклад, стабілізацією фізичного параметру), або і тим і іншим способом. У ще одному варіанті здійснення, "лікування" відноситься до запобігання або відстрочки виникнення або розвитку або прогресування захворювання або розладу.

Мається на увазі, що використовувані у контексті даного винаходу (зокрема, у контексті пунктів формули винаходу) форми однини охоплюють як форму однини, так і форму множини, якщо у винаході не зазначено інакше або це однозначно не суперечить контексту.

Усі описані у винаході методи можуть бути здійснені у будь-якому підходящому порядку, якщо у винаході не зазначено інакше, або ж це однозначно не суперечить контексту. Використання у винаході будь-яких прикладів або ілюстративних виразів (наприклад, "такий як") має своєю метою тільки більш докладне пояснення винаходу та не накладає на обсяг винаходу або ж пункти формули винаходу ніяких обмежень.

Термін "антибактеріальний засіб" відноситься до засобів, синтезованих або модифікованих у лабораторії, які мають або бактерицидну, або бактеріостатичну активність. У цьому контексті, "активний" засіб буде інгібувати ріст *P. aeruginosa* та/або інших грамнегативних бактерій. Термін "інгібування росту" вказує на зменшення темпів росту числа популяції конкретної бактерії. Таким чином, термін включає ситуації, коли популяція бактерій росте, але з меншою швидкістю, а також ситуації, коли ріст популяції припиняється, так само як і ситуації, коли число бактерій у популяції знижується або навіть популяція знищується.

Термін "бета-лактаманний антибіотик" відноситься до антибактеріального агенту, який містить 4-членне лактамне кільце, яке також називають як бета-лактаму, що має антибактеріальну активність. Класи бета-лактаманних антибіотиків включають пеніциліни, цефалоспорины, монобактами, карбапенеми, оксапенеми, цефеми, карбацефеми, оксацефеми, пенеми, пенами, сульбактами та клавмами. Певні бета-лактаманні антибіотики, які підходять для застосування у

способах та композиціях даного винаходу, розкриті у цьому описі, та включають азтреонам, піперацилін, цефтазидим, меропенем та бета-лактам 5.

Термін "бета-лактамаза", як використано у цьому описі, відноситься до ферментативної активності, яку має або показує бактерія, яка каталізує розкладання або дезактивацію бета-лактамного антибіотику. Як правило, вона каталізує гідроліз бета-лактамного кільця моноциклічного або біциклічного бета-лактамного антибіотику, та експресується у грам-негативній або грам-позитивній бактерії, яка може викликати інфекцію у суб'єктів-ссавців, особливо у людей. Бета-лактамази, у яких є особлива зацікавленість, включають бета-лактамази Класу А (включаючи бета-лактамази розширеного спектру та серінові карбопенени), а також Класів С та D.

Термін "інгібітор бета-лактамази" або "BLI", як використано у цьому описі, відноситься до сполуки, яка інгібує щонайменше одну бактеріальну бета-лактамазу. Це означає, що він інгібує щонайменше один член класів серінових бета-лактамаз, наприклад, бета-лактамазу Класу А, С або D. Знижуючи бета-лактамазну активність, ці сполуки посилюють активність бета-лактамного антибіотику, що використовується у комбінації з BLI; цей ефект називається у цьому описі потенціюванням, так як BLI сам по собі не має значної антибактеріальної активності, але підвищує або потенціалізує антибактеріальну активність антибіотику у бактерії, що має бета-лактамазну активність. Потенціювання є результатом того факту, що BLI дозволяє бета-лактамному антибіотику діяти довше *in vivo* у межах бактеріального періплазматичного простору або у безпосередній близькості до бактеріальних патогенів, роблячи антибіотик більш ефективним, або роблячи його ефективним при нижчій дозі, ніж була б необхідна за відсутності BLI Формули (A). Переважно, BLI є ефективним при 50 % концентрації інгібітору нижче приблизно 100 мкг/мл (мікрограмів/мл), або нижче приблизно 50 мкг/мл, або нижче приблизно 25 мкг/мл.

Підходящі бета-лактамні антибіотики для застосування у комбінації з BLI даного винаходу включають, наприклад, азтреонам, іміпенем, ертапенем, меропенем, доріпенем, біапенем, піперацилін, цефтріаксон, цефоперазон, цефотаксім, цефтазидим, цефтолозан, цефепім, паніпенем, тікарцилін, ампіцилін, амоксицилін, карбеніцилін, азлоцилін, мезлоцилін, тікарцилін, цефоперазон, бета-лактам 5 (показаний у цьому описі) та подібні.

"Необов'язково заміщена" відноситься до групи, яка може бути заміщена у одному або більше положеннях за допомогою будь-якого одного або будь-якої комбінації радикалів, перерахованих далі. Таке заміщення включає заміну атому водню незаміщеної групи на інший фрагмент; тому, число замісників, які можуть бути введені у будь-яку незаміщену групу, дорівнює числу атомів водню у незаміщеній групі. Якщо не зазначено інакше, тоді "необов'язково заміщена" означає, що можуть бути додані до трьох неводневих заміщуючих груп.

"Галоген", як використано у цьому описі, може являти собою фтор, хлор, бром або йод.

"C₁-C₆ алкіл" або "C₁₋₆ алкіл", як використано у цьому описі, позначає лінійний або розгалужений алкіл, що має 1-6 вуглецевих атомів. Якщо зазначено різне число вуглецевих атомів, наприклад, C₈ або C₃, тоді визначення повинно бути інтерпретоване відповідним чином, наприклад, "C₁-C₄ алкіл" буде включати метил, етил, пропіл, ізопропіл, бутіл, ізобутіл, втор-бутіл та трет-бутіл.

"C₁-C₆ алкокси" або "C₁₋₆ алкокси", як використано у цьому описі, позначає лінійний або розгалужений алкокси, що має 1-6 вуглецевих атомів. Якщо зазначено різне число вуглецевих атомів, наприклад, C₈ або C₃, тоді визначення повинно бути інтерпретоване відповідним чином, наприклад, "C₁-C₄ алкокси" буде являти собою метокси, етокси, пропокси, ізопропокси, бутокси, ізобутокси, втор-бутокси та трет-бутокси.

"C₁-C₄-галогеналкіл" або "C₁₋₄ галогеналкіл", як використано у цьому описі, позначає лінійний або розгалужений алкіл, що має 1-4 вуглецевих атомів, у якому, щонайменше, один водень замінений на галоген. Якщо зазначено різне число вуглецевих атомів, наприклад, C₆ або C₃, тоді визначення повинно бути інтерпретоване відповідним чином, наприклад "C₁-C₄-галогеналкіл" буде являти собою метил, етил, пропіл, ізопропіл, бутіл, ізобутіл, втор-бутіл та трет-бутіл, які мають, щонайменше, один водень, заміщений за допомогою галогену, наприклад, де галоген являє собою фтор: CF₃CF₂-, (CF₃)₂CH-, CH₃-CF₂-, CF₃CF₂-, CF₃, CF₂H-, CF₃CF₂CHCF₃ або CF₃CF₂CF₂CF₂-.

"C₃-C₈-циклоалкіл" або "C₃₋₈ циклоалкіл", як використано у цьому описі, відноситься до насиченого моноциклічного вуглеводневого кільця, що містить від 3 до 8 вуглецевих атомів. Приклади таких груп включають циклопропіл, циклобутіл, циклопентил та циклогексил. Якщо зазначено різне число вуглецевих атомів, наприклад, C₃-C₆, тоді визначення повинно бути інтерпретоване відповідним чином.

"4-8 членний гетероциклі", "5-6 членний гетероциклі", "3-10 членний гетероциклі", "3-14 членний гетероциклі", "4-14 членний гетероциклі" та "5-14 членний гетероциклі", відносяться відповідно до 4-8-членних, 5-6 членних, 3-10 членних, 3-14 членних, 4-14 членних та 5-14 членних гетероциклічних кілець, що містять від 1 до 7, від 1 до 5 або від 1 до 4 гетероатомів, вибраних з групи, що складається з азоту, кисню та сірки, які можуть бути насиченими або частково насиченими. "Гетероциклічний" може бути використаний взаємозамінно з "гетероциклільний". Гетероциклічна група може бути приєднана через гетероатом або вуглецевий атом. Термін "гетероциклі" включає кільцеві групи з одним кільцем, конденсовані кільцеві групи та місткові групи. Приклади таких гетероциклілів включають, але цим не обмежуючи, піролідін, піперидин, піперазин, оксазолідін, піролідінон, морфолін, тетрагідрофуран, тетрагідротіофен, тетрагідротіопіран, тетрагідропіран, 1,4-діоксан, 1,4-оксатіан, 8-азабіцикло-[3.2.1]октан, 3,8-діазабіцикло[3.2.1]октан, 3-окса-8-азабіцикло[3.2.1]октан, 8-окса-3-азабіцикло[3.2.1]октан, 2-окса-5-азабіцикло[2.2.1]гептан, 2,5-діазабіцикло[2.2.1]гептан, азетидин, етилендіоксо, окстан та тіазолідін. Переважно, щоб гетероциклічна або гетероциклільна група являла собою насичену або частково насичену моноциклічну групу, якщо не зазначено інакше, та містила 5-7 кільцевих атомів з числом до двох гетероатомів, вибраних з N, O та S, як кільцеві атоми. У деяких варіантах здійснення, гетероциклічна група додатково включає біциклічні кільцеві системи, що містять 1 або 2 гетероатоми, такі як N, O або S, як кільцеві атоми, та що включають два конденсовані 3-, 4-, 5- або 6-членні кільця, такі як 3-азабіцикло[3.1.0]гексан, 8-азабіцикло[3.2.1]октан, 3,8-діазабіцикло[3.2.1]октан, 3-окса-8-азабіцикло[3.2.1]октан, 8-окса-3-азабіцикло[3.2.1]октан, 2-окса-5-азабіцикло[2.2.1]гептан, 2,5-діазабіцикло[2.2.1]гептан.

"Гетероарил" являє собою повністю ненасичене (ароматичне) кільце. Термін "гетероарил" відноситься до 5-14 членної моноциклічної або біциклічної або трициклічної ароматичної кільцевої системи, що має від 1 до 8 гетероатомів, вибраних з N, O та S. Звичайно, гетероарил являє собою 5-10 членну кільцеву систему (наприклад, 5-6 членний моноцикл або 8-10 членний біцикл) або 5-6 членну кільцеву систему. Якщо не зазначено інакше, то, переважно, щоб гетероарил являв собою ізольоване 5-6-членне кільце, яке містить до 4 гетероатомів, вибраних з N, O та S, як кільцеві атоми. Типові гетероарильні групи включають фуран, ізотіазол, тіадіазол, оксадіазол, індазол, індол, хінолін, 2- або 3-тієніл; 2- або 3-фурил; 2- або 3-піролідін; 1-, 2-, 4- або 5-імідазолін; 1-, 3-, 4- або 5-піразолін; 2-, 4- або 5-тіазолін, 3-, 4- або 5-ізотіазолін, 2-, 4- або 5-оксазолін, 3-, 4- або 5-ізоксазолін, 3- або 5-(1,2,4-триазолін), 4- або 5-(1,2,3-триазолін), тетразолін, триазин, піримідин, 2-, 3- або 4-піридил, 3- або 4-піридазинін, 3-, 4- або 5-піразинін, 2-піразинін, та 2-, 4- або 5-піримідинін.

Термін "гідрокси" або "гідроксил" відноситься до групи -ОН, або при використанні як частини назви групи, такої як гідроксиалкіл, він відноситься до названої групи, заміщеної за допомогою -ОН.

"Цвітеріон" являє собою молекулу, яка має як позитивно-заряджені, так і негативно-заряджені групи, але не має загального заряду, тобто заряди + та - компенсуються всередині молекули. Для того, щоб перетворити аніонну молекулу у нейтральну молекулу, аніони, як правило, мають замінюватися нейтральними групами, але, щоб перетворити аніонну молекулу у цвітеріон, нейтральну групу замінюють на катіонну групу.

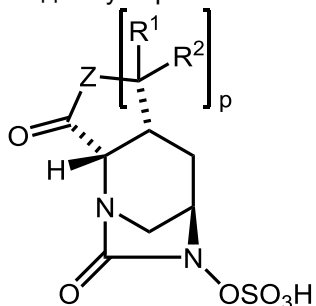
Сполуки Формули (A) існують у вільній формі, у вигляді солі або у вигляді цвітеріону. У цьому описі, поки не зазначено інше, вираз, такий як "сполуки Формули (A)", слід розуміти як такий, що охоплює сполуки у будь-якій формі, наприклад, у формі вільної основи або солі приєднання кислоти або обмінної солі. Солі, які можуть бути неприйнятними для фармацевтичних застосувань, але які можуть бути використані, наприклад, для виділення або очищення вільних сполук Формули (A), такі як пікрати або перхлорати, також включаються. Для терапевтичного застосування використовують тільки фармацевтично прийнятні солі, цвітеріони або вільні сполуки (де необхідно, у формі фармацевтичних препаратів), та тому вони є кращими. Солі являють собою переважно фізіологічно прийнятні солі, утворені, якщо це можливо, шляхом додавання кислоти або основи або шляхом іонного обміну.

Сполуки Формули (A) можуть існувати у формі різних цвітеріонів. Наприклад, сполуки Формули (A) можуть показувати протоновані аміно-групи та депротоновані сульфат-групи. У цьому описі, малюнки сполук у вільній формі також включають інші можливі цвітеріони. Цвітеріони сполук Формули (A) також охоплюються даним винаходом.

Сполуки Формули (A) можуть існувати у оптично активній формі або у формі сумішей оптичних ізомерів, наприклад, у формі рацемічних сумішей або діастереомерних сумішей. Зокрема, асиметричний(і) атом(и) вуглецю можуть бути присутніми у сполуках Формули (A) та їх солях. Усі оптичні ізомери та їх суміші, включаючи рацемічні суміші, охоплюються даним

винаходом. У заявці описані різні варіанти здійснення винаходу. Слід мати на увазі, що характерні риси, зазначені у кожному варіанті здійснення, можуть бути об'єднані з іншими зазначеними характерними рисами з одержанням додаткових варіантів здійснення. Приведені далі пронумеровані варіанти здійснення являють собою деякі аспекти винаходу.

5 У одному варіанті втілення, даний винахід забезпечує сполуки Формули (A):



де p приймає значення 1 або 2;

R^1 та R^2 незалежно вибирають з H та C_1 - C_4 алкіл, необов'язково заміщений за допомогою до трьох груп, вибраних з галогену, CN, -OR, оксо та -NRR";

10 Z являє собою NR^3 або $N-OR^3$;

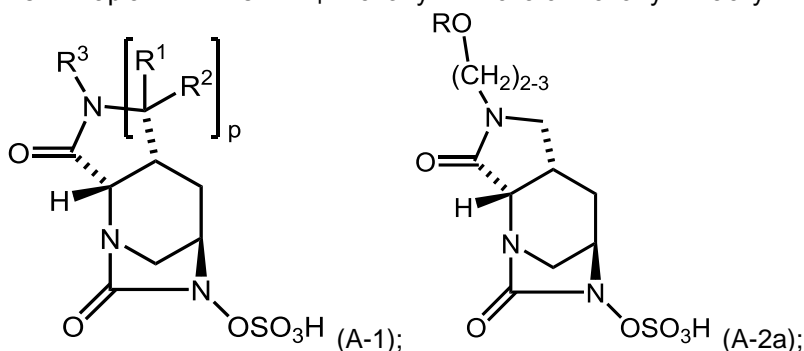
R^3 незалежно вибирають у кожному випадку з H, Су та C_1 - C_4 алкіл, необов'язково заміщений за допомогою до трьох груп, вибраних з Су, галогену, CN, -OR та -NRR";

Су являє собою C_3 - C_6 циклоалкільне кільце або 4-6 членне гетероциклічне кільце, що містить один або два гетероатоми, вибрані з N, O та S як кільцевих членів, та Су є необов'язково заміщеним за допомогою до трьох груп, вибраних з оксо, галогену, C_1 - C_2 алкілу, CN, -OR та -NRR"; та

15 R та R'' незалежно вибирають з H та C_1 - C_4 алкілу, необов'язково заміщеного однією або двома групами, вибраними з галогену, -OH, -CN, -O-(C_1 - C_4 алкіл), оксо, -NH₂, -NH(C_1 - C_4 алкіл), та -N(C_1 - C_4 алкіл)₂, або R та R'' взяті разом з атомом азоту, до якого вони обидва прикріплені, можуть утворювати кільце, вибране з таких як: піперидин, морфолін, піролідін та азетидин, де кільце є необов'язково заміщеним однією або двома групами, вибраними з галогену, C_1 - C_2 алкілу, -OH, -CN, -O-(C_1 - C_4 алкіл), оксо, -NH₂, -NH(C_1 - C_4 алкіл) та -N(C_1 - C_4 алкіл)₂;

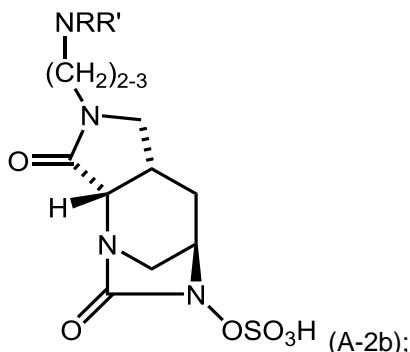
20 або їх сіль або цвітеріонну форму.

Певні варіанти втілення цих сполук включають сполуки наступних формул:



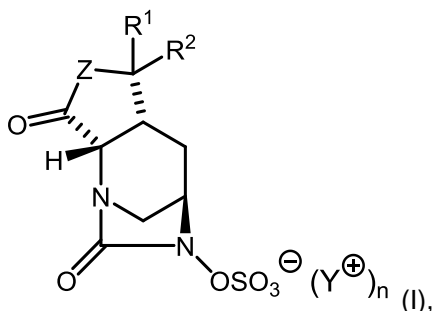
25

або



або їх сіль або цвітеріонну форму.

Варіант втілення, у якому є особлива зацікавленість, являє собою сполуку Формули (I):



де:

R¹ та R² незалежно вибирають з H та C₁-C₄ алкілу, необов'язково заміщеного за допомогою до трьох груп, вибраних з галогену, CN, -OR, оксо та -NRR";

5 Z являє собою NR³ або N-OR³;

R³ незалежно вибирають у кожному випадку з H, Су, та C₁-C₄ алкілу, необов'язково заміщеного за допомогою до трьох груп, вибраних з Су, галогену, CN, -OR та -NRR";

Су являє собою C₃-C₆ циклоалкільне кільце, або 4-6 членне гетероциклічне кільце, що містить один або два гетероатоми, вибрані з N, O та S як кільцевих членів, та Су є
10 необов'язково заміщеним за допомогою до трьох груп, вибраних з оксо, галогену, C₁-C₂ алкілу, CN, -OR та -NRR"; та

R та R" незалежно вибирають з H та C₁-C₄ алкілу, необов'язково заміщеного однією або двома групами, вибраними з галогену, -OH, -CN, -O-(C₁-C₄ алкіл), оксо, -NH₂, -NH(C₁-C₄ алкіл) та -N(C₁-C₄ алкіл)₂, або R та R" взяті разом з атомом азоту, до якого вони обидва прикріплені,
15 можуть утворювати кільце, вибране з таких як: піперидин, морфолін, піролідін та азетидин, де кільце є необов'язково заміщеним однією або двома групами, вибраними з галогену, C₁-C₂ алкілу, -OH, -CN, -O-(C₁-C₄ алкіл), оксо, -NH₂, -NH(C₁-C₄ алкіл) та -N(C₁-C₄ алкіл)₂;

Y являє собою катіонну групу;

n приймає значення 0 або 1; та

20 коли n приймає значення 0, сполука Формули I має цвітеріонну форму.

Кожна зі сполук Прикладів, показаних у цьому описі, являє собою спеціальний варіант втілення даного винаходу.

Сполука за будь-яким з попередніх варіантів втілення, у якій Z являє собою NR³,

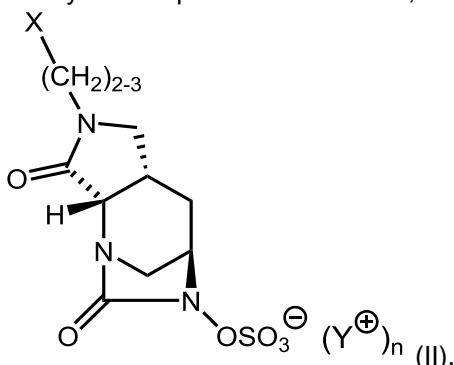
25 та R³ являє собою H або C₁-C₄ алкіл, необов'язково заміщений за допомогою -OR або -NRR", або її сіль або цвітеріонна форма.

Сполука за варіантом втілення 4, у якій R³ являє собою C₁-C₂ алкіл, необов'язково заміщений за допомогою -OR або -NRR", або її сіль або цвітеріонна форма.

Сполука за варіантом втілення 4, у якій R³ являє собою H, або її сіль або цвітеріонна форма.

30 Сполука за будь-яким з варіантів втілення 1-6, де R¹ та R² обидва являють собою H, або її сіль або цвітеріонна форма.

Сполука за варіантом втілення 1, яка має цю структуру:



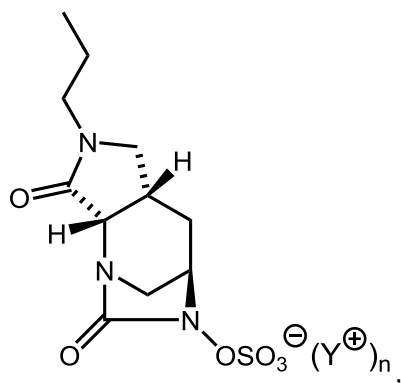
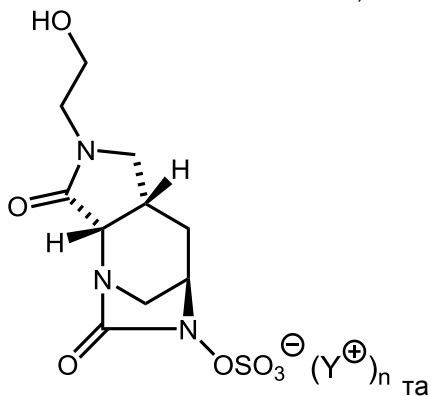
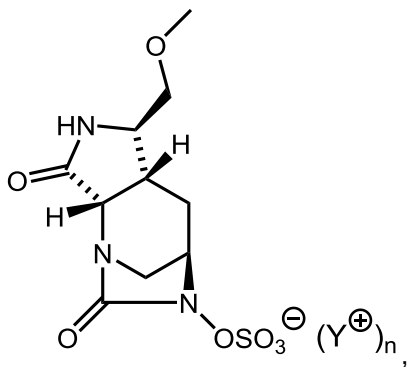
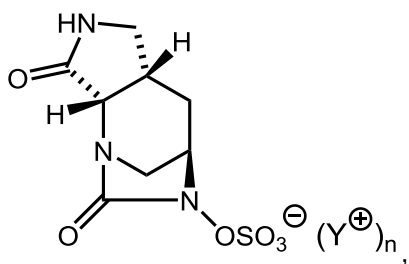
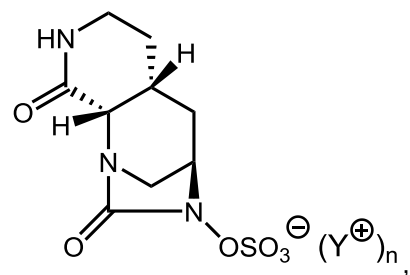
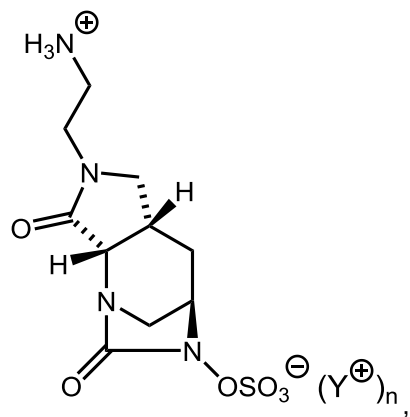
де X являє собою -OR або -NRR";

Y являє собою катіонну групу;

35 n приймає значення 0 або 1; та

коли n приймає значення 0, сполука Формули II має цвітеріонну форму.

Сполука за варіантом втілення 1, яку вибирають з:



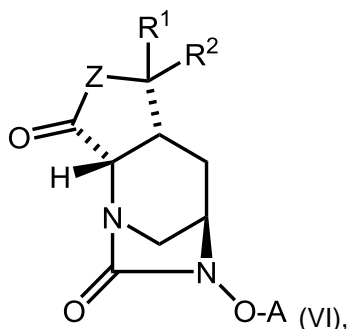
як їх сіль або цвітеріонна форма.

Сполука за будь-яким з попередніх варіантів втілення, у якій n приймає значення 1 та Y вибирають з натрію, калію, амонію, кальцію, магнію, заліза, срібла, цинку та міді.

Сполука за будь-яким з попередніх варіантів втілення, у якій Y являє собою натрій.

Сполука за будь-яким з попередніх варіантів втілення, яка являє собою фармацевтично прийнятну сіль або цвітеріон.

Варіант втілення, у якому є особлива зацікавленість, являє собою сполуку Формули (VI):



де:

R¹ та R² незалежно вибирають з H та C₁-C₄ алкілу, необов'язково заміщеного за допомогою до трьох груп, вибраних з галогену, CN, -OR, оксо та -NRR";

Z являє собою NR³ або N-OR³;

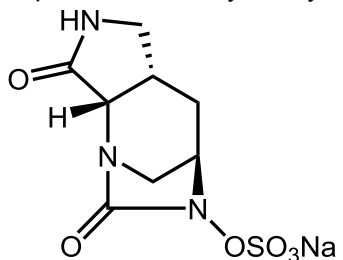
R³ незалежно вибирають у кожному випадку з H, Су, та C₁-C₄ алкілу, необов'язково заміщеного за допомогою до трьох груп, вибраних з Су, галогену, CN, -OR та -NRR";

Су являє собою C₃-C₆ циклоалکیلне кільце або 4-6 членне гетероциклічне кільце, що містить один або два гетероатоми, вибрані з N, O та S як кільцевих членів, та Су є необов'язково заміщеним за допомогою до трьох груп, вибраних з оксо, галогену, C₁-C₂ алкілу, CN, -OR та -NRR"; та

R та R" незалежно вибирають з H та C₁-C₄ алкілу, необов'язково заміщеного однією або двома групами, вибраними з галогену, C₁-C₂ алкілу, -OH, -CN, -O-(C₁-C₄ алкіл), оксо, -NH₂, -NH(C₁-C₄ алкіл), та -N(C₁-C₄ алкіл)₂, або R та R", взяті разом з атомом азоту, до якого вони обидва прикріплені, можуть утворювати кільце, вибране з таких як: піперидин, морфолін, піролідин та азетидин, де кільце є необов'язково заміщеним однією або двома групами, вибраними з галогену, C₁-C₂ алкілу, -OH, -CN, -O-(C₁-C₄ алкіл), оксо, -NH₂, -NH(C₁-C₄ алкіл) та -N(C₁-C₄ алкіл)₂;

A являє собою H або -CH₂-Ph, де Ph являє собою феніл, необов'язково заміщений однією або двома групами, вибраними з галогену, C₁-C₄ алкілу, C₁-C₄ алкокси; або її сіль або цвітеріон.

Варіант втілення, у якому є особлива зацікавленість, являє собою сполуку формули (VII):



Сполука за варіантом втілення 12 у кристалічній формі.

Сполука за варіантом втілення 13, яка показує ендотерму диференційної скануючої калориметрії у інтервалі між 283 °C та 350 °C.

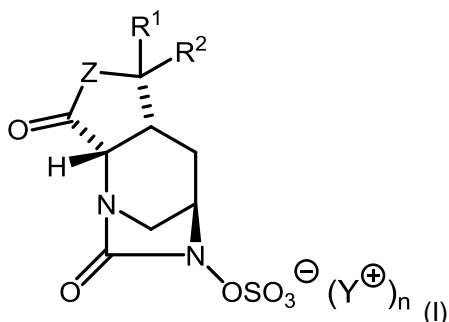
Сполука за варіантом втілення 13, характеризується XRPD піками при дифракційних кутах (2тета) 8,3 та 16,6 градусів.

Сполука за варіантом втілення 15, яка додатково характеризується одним або більше додатковими XRPD піками при дифракційних кутах (2тета) 25,1 або 31,3 градусів.

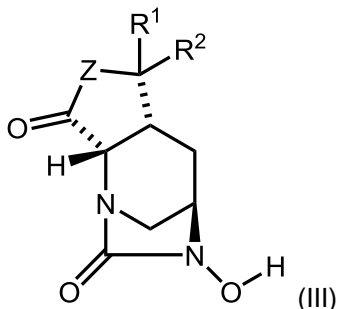
Сполука за варіантом втілення 16, яка додатково характеризується одним або більше додатковими XRPD піками при дифракційних кутах (2тета) 27,4 або 28,7 градусів.

Сполука за варіантом втілення 17, яка додатково характеризується додатковими XRPD піками при дифракційних кутах (2тета) 19,5 градусів або 21,7 градусів.

Спосіб одержання сполуки Формули (I),



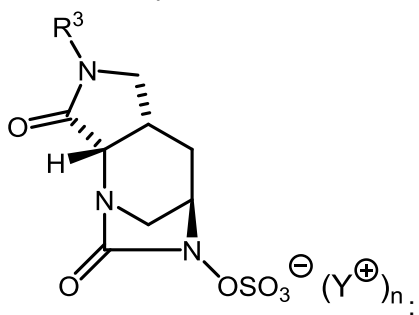
у відповідності з варіантом втілення 3, у вигляді її солі або цвітеріонної форми;
де спосіб включає приведення у контакт сполуки Формули (III)



у якій Z, R¹ та R² та R³ приймають значення, визначені у варіанті втілення 3,
з сульфонілюючим агентом у присутності основи.

Спосіб за варіантом втілення 19, де Z являє собою NR³, та R³ являє собою H або C₁-C₂
алкіл, необов'язково заміщений за допомогою -OR або -NRR",
або її фармацевтично прийнятна сіль.

Спосіб за варіантом втілення 19 або 20, де сполука Формули (I) має формулу

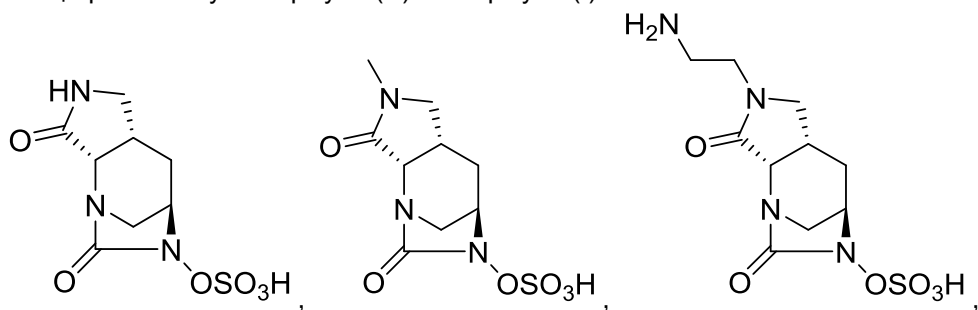


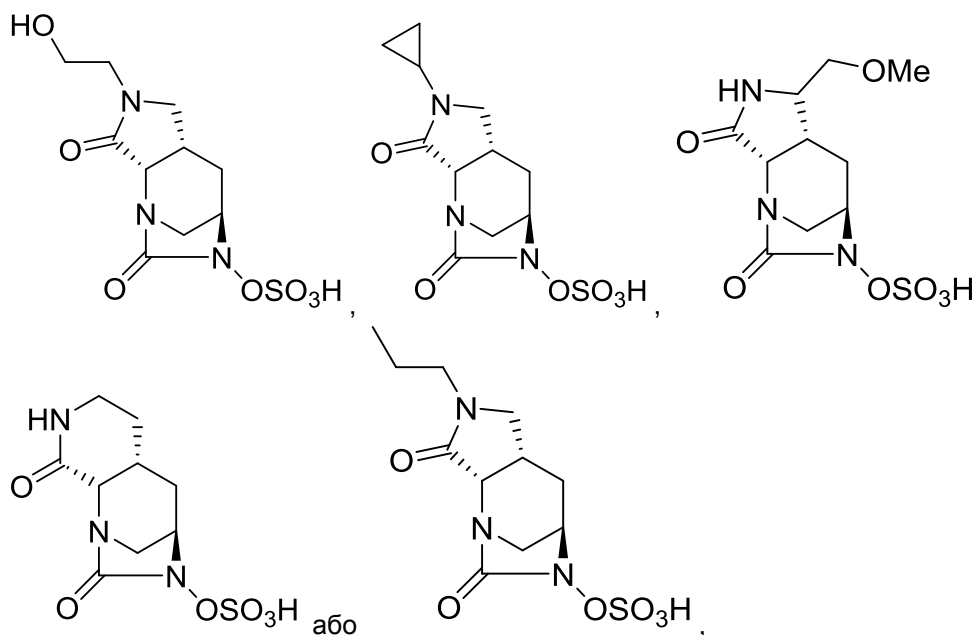
або її сіль або цвітеріонну форму.

Спосіб за будь-яким з варіантів втілення 19-21, де R³ являє собою H.

Сполуки Формули (III) є корисними для синтезу сполук Формули (I), як описано у Варіанті
втілення 3 та інших варіантах втіленнях, представлених вище.

Специфічні сполуки Формули (A) та Формули (I) включають:





або їх сіль або цвітеріон.

У додатковому аспекті, винахід забезпечує:

- 5 Фармацевтичну комбінацію, що включає (а) перший терапевтичний засіб, який являє собою сполуку винаходу, наприклад, сполуку формули (A) або будь-якої її підформули, та (b) другий терапевтичний засіб, як описано вище. Другий терапевтичний засіб являє собою, як правило, бета-лактамний антибіотик.

- 10 Описаний вище спосіб, що включає спільне введення, наприклад, одночасно або послідовно, терапевтично ефективної кількості сполуки даного винаходу, наприклад, сполуки формули (A) або будь-якої її підформули, яка описана у винаході, та описаного вище другого терапевтичного засобу.

- 15 Мається на увазі, що терміни "спільне введення" або "об'єднане введення" або інші подібні терміни, застосовувані у винаході, охоплюють введення вибраних терапевтичних засобів одному пацієнту, та передбачається, що вони включають схеми лікування, у яких терапевтичні засоби необов'язково вводять одним і тим же способом введення або у один і той же момент часу. Комбіновані препарати також входять у обсяг даного винаходу. Введення фармацевтичної комбінації винаходу дає у результаті позитивний ефект, наприклад, синергетичний терапевтичний ефект у порівнянні з монотерапією, при якій використовують тільки один з її фармацевтично активних інгредієнтів.

- 20 Кожен компонент комбінації згідно із цим винаходом може бути введений окремо, разом або у будь-якій їх комбінації.

- 25 Зі сполуки винаходу та будь-якого додаткового засобу можуть бути приготовлені окремі лікарські форми. Як варіант, для зменшення числа лікарських форм, що вводяться пацієнту, зі сполуки винаходу та будь-якого додаткового засобу може бути приготовлена одна спільна лікарська форма у будь-якій комбінації. Наприклад, зі сполуки винаходу може бути приготовлена одна лікарська форма, а з додаткового засобу може бути приготовлена інша лікарська форма. Будь-які окремі лікарські форми можуть бути введені у один і той же момент часу або у різні моменти часу.

- 30 Як варіант, композиція цього винаходу включає описаний у винаході додатковий засіб. Кожен компонент може бути присутнім у індивідуальних композиціях, комбінації композицій або у одній єдиній композиції.

Сполуки винаходу можуть бути отримані за допомогою наведених нижче загальних методів синтезу, конкретні приклади яких описані більш докладно у розділі прикладів.

- 35 Сполуки даного винаходу та проміжні сполуки можуть бути також перетворені одна у іншу за допомогою методів, добре відомих спеціалістам у цій галузі.

- 40 У межах цього опису, "захисною групою" називають тільки групу, що легко віддаляється, яка не входить у структуру конкретно заданого кінцевого продукту сполук даного винаходу, якщо з контексту не випливає інше. Захист функціональних груп за допомогою таких захисних груп, захисні групи самі по собі та реакції їх руйнування описані, наприклад, у стандартних довідкових виданнях, таких як J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London and New York 1973, у T. W. Greene та P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic

Synthesis", третє видання, Wiley, New York 1999, у "The Peptides"; том 3 (редактори: E. Gross та J. Meienhofer), Academic Press, London and New York 1981, у "Methoden der organischen Chemie" (Методи органічної хімії), Houben Weyl, 4-те видання, том 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, у H.-D. Jakubke та H. Jeschkeit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine" (Амінокислоти, пептиди, білки), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, and Basel 1982, та у Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate" (Хімія вуглеводнів: моносахариди та похідні), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Особливістю захисних груп є те, що вони можуть бути легко видалені (тобто без протікання небажаних вторинних реакцій), наприклад, шляхом сольволізу, відновлення, фотолізу або, як варіант, при фізіологічних умовах (наприклад, у результаті ферментативного розщеплення).

Солі сполук даного винаходу, що мають, щонайменше, одну солеутворюючу групу, можуть бути отримані за відомими для спеціалістів у цій галузі методами. Наприклад, солі сполук даного винаходу, що мають кислотні групи, можуть бути утворені, наприклад, шляхом обробки сполук, або солі сполук, такі як тетрабутиламонійна сіль, за допомогою сполук металів, таких як солі лужних металів з відповідними органічними карбоновими кислотами, наприклад, натрієвої солі 2-етилгексанової кислоти у відповідному підходящому розчиннику, такому як суміш ізобутанол/вода, який може сприяти осадженню небажаної іонної пари (наприклад, тетрабутиламонію 2-етилгексаноат, якщо використовується тетрабутиламонійна сіль). Переважно, сіль сполуки даного винаходу, така як амонійна сіль, може бути піддана дії іонообмінної смоли у її формі з лужним металом або лужно-земельним металом для сприяння протиіонному обміну. Солі приєднання кислоти або обмінні солі сполук даного винаходу одержують за загальноприйнятими методами, наприклад, шляхом обробки сполук за допомогою кислоти або підходящого аніоно-обмінного реагенту. Цвітеріони або внутрішні солі сполук даного винаходу, що містять солеутворюючі групи з кислотними та лужними властивостями, наприклад, вільну сульфатну групу та вільну аміногрупу, можуть бути отримані, наприклад, шляхом нейтралізації солей, таких як солі приєднання кислоти, до ізоелектричної точки, наприклад, за допомогою слабких основ, або шляхом обробки за допомогою іонообмінників.

Солі можуть бути перетворені у вільні форми сполук за методами, добре відомими спеціалістам у цій галузі. Гідрохлоридні солі можуть бути перетворені, наприклад, шляхом обробки за допомогою підходящого основного агента. Суміші ізомерів, які можуть бути одержані відповідно до даного винаходу, в основному можуть бути відділені за способом, відомим фахівцям, кваліфікованим у даній галузі техніки, у окремі ізомери; діастереоізомери можуть бути розділені, наприклад, шляхом розподілу між поліфазними сумішами розчинників, перекристалізації та/або хроматографічного розділення, наприклад, за допомогою силікагелю або, наприклад, шляхом рідинної хроматографії середнього тиску за допомогою колонки з оберненою фазою, та рацемати можуть бути розділені, наприклад, шляхом утворення солей з оптично чистими солеутворюючими реагентами та розділення отриманої таким чином суміші діастереоізомерів, наприклад, методами фракційної кристалізації або хроматографії у колонках з оптично активними матеріалами.

Проміжні сполуки та кінцеві продукти можуть бути піддані додатковій обробці та/або очищені за стандартними методами, наприклад, з використанням хроматографічних методів, методів розподілу, кристалізації (перекристалізації) та інших подібних методів.

Наступне застосовне у цілому до всіх процесів синтезу, згаданих у винаході.

Усі стадії процесу одержання сполук винаходу можуть бути проведені при реакційних умовах, які відомі спеціалістам у цій галузі, у тому числі при конкретно зазначених умовах, за відсутності або, звичайно, у присутності розчинників або розріджувачів, що включають, наприклад, розчинники або розріджувачі, які є інертними у відношенні використовуваних реагентів та які розчиняють їх, за відсутності або у присутності каталізаторів, конденсуючих реагентів або нейтралізуючих реагентів, наприклад, іонообмінників, таких як катіонообмінники, наприклад, у H^+ формі, в залежності від природи реакції та/або реагентів, при зниженій, нормальній або підвищеній температурі, наприклад, у діапазоні температур від приблизно $-100^\circ C$ до приблизно $190^\circ C$, у тому числі, наприклад, від приблизно $-80^\circ C$ до приблизно $150^\circ C$, наприклад, при температурі від $-80^\circ C$ до $-60^\circ C$, при кімнатній температурі, при температурі від $-20^\circ C$ до $40^\circ C$ або при температурі кипіння розчиннику з використанням зворотного холодильника, при атмосферному тиску або у закритій посудині, у відповідних випадках, при підвищеному тиску, та/або у інертній атмосфері, наприклад, у атмосфері аргону або у атмосфері азоту.

На всіх стадіях реакцій, утворювані суміші ізомерів можуть бути розділені на індивідуальні ізомери, наприклад, діастереоізомери або енантіомери, або на будь-які необхідні суміші ізомерів, наприклад, рацемати або суміші діастереоізомерів.

Розчинники, які підходять для проведення будь-якої конкретної реакції, можуть включати розчинники, які зазначені конкретно, або, наприклад, воду, складні ефіри, такі як нижчий алкіл-нижчі алканоати, наприклад, етилацетат, прості ефіри, такі як аліфатичні прості ефіри, наприклад, діетиловий ефір, або циклічні прості ефіри, наприклад, тетрагідрофуран або діоксан, рідкі ароматичні вуглеводні, такі як бензол або толуол, спирти, такі як метанол, етанол або 1- або 2-пропанол, нітрили, такі як ацетонітрил, галогеновані вуглеводні, такі як метиленхлорид або хлороформ, аміди кислот, такі як диметилформамід або диметилацетамід, основи, такі як гетероциклічні азотисті основи, наприклад, піридин або N-метилпіролідін-2-он, ангідриди карбонових кислот, такі як ангідриди нижчих алканових кислот, наприклад, оцтовий ангідрид, циклічні, лінійні або розгалужені вуглеводні, такі як циклогексан, гексан або ізопентан, метилциклогексан, або суміші цих розчинників, наприклад, водні розчини, якщо при описі процесів не зазначене інше. Такі суміші розчинників можуть бути також використані при наступній обробці реакційної суміші, наприклад, методом хроматографії або розподілу.

Сполуки даного винаходу, у тому числі їх солі, можуть бути отримані у формі гідратів, або, наприклад, їхні кристали можуть включати розчинник, використовуваний для кристалізації. Можуть бути присутніми різні кристалічні форми.

Усі вихідні матеріали, компоненти структури, реагенти, кислоти, основи, дегідратуючі засоби, розчинники та каталізатори, використовувані для синтезу сполук даного винаходу, або забезпечуються промисловістю, або можуть бути отримані за методами органічного синтезу, відомими будь-якому спеціалісту у цій галузі.

Термін "оптичний ізомер" або "стереоізомер" відноситься до будь-якої з різних стереоізомерних конфігурацій, які можуть існувати для даної сполуки даного винаходу, та він включає геометричні ізомери. Слід мати на увазі, що замісник може бути приєднаний до вуглецевого атому з хіральним центром. Термін "хіральний" відноситься до молекул, які не мають властивості сумісності з їх дзеркальним зображенням, тоді як термін "ахіральний" відноситься до молекул, які сумісні з їх дзеркальним зображенням. Тому, винахід включає енантіомери, діастереомери або рацемати сполуки. "Енантіомери" являють собою пари стереоізомерів, які не сумісні із дзеркальним зображенням один одного. Суміш 1:1 пари енантіомерів являє собою "рацемічну" суміш. Цей термін використовують у відповідних випадках для позначення рацемічної суміші. "Діастереоізомери" являють собою стереоізомери, які мають, щонайменше, два асиметричні атоми, але які не є дзеркальними зображеннями один іншого. Абсолютну стереохімію вказують у відповідності з R-S системою Кана-Інгольда-Прелога. Коли сполука являє собою чистий енантіомер, стереохімія для кожного хірального вуглецю може бути зазначена як або R, або S. Розділені сполуки, для яких абсолютна конфігурація невідома, можуть бути позначені як (+) або (-), у залежності від напрямку (правообертальна або лівообертальна), у якому вони обертають плоскополяризоване світло при довжині хвилі D лінії натрію. Деякі сполуки, описані у винаході, містять один або більше центрів або осей асиметрії та, у силу цього, можуть утворювати енантіомери, діастереомери та інші стереоізомерні форми, які можуть бути визначені у термінах абсолютної стереохімії як (R)- або (S)-.

У залежності від вибору вихідних матеріалів та методик, сполуки можуть бути присутніми у формі одного з можливих ізомерів або їх сумішей, наприклад, у формі чистих оптичних ізомерів або у формі сумішей ізомерів, таких як рацемати та діастереоізомерні суміші, у залежності від числа асиметричних вуглецевих атомів. Мається на увазі, що даний винахід включає всі такі можливі стереоізомери, у тому числі рацемічні суміші, діастереомерні суміші та оптично чисті форми. Оптично активні (R)- та (S)-ізомери можуть бути отримані шляхом використання хіральних синтонів або хіральних реагентів, або розділені за традиційними методами. Якщо сполука містить подвійний зв'язок, замісник може бути у E або Z конфігурації. Якщо сполука містить дизаміщений циклоалкіл, циклоалкільний замісник може мати цис- або транс-конфігурацію. Передбачається, що всі таутомерні форми також входять у обсяг винаходу.

Будь-які отримані суміші ізомерів можуть бути розділені у силу фізико-хімічних відмінностей складових компонентів на чисті або практично чисті геометричні або оптичні ізомери, діастереомери, рацемати, наприклад, хроматографією та/або фракційною кристалізацією.

Будь-які отримані рацемати кінцевих продуктів або проміжних сполук можуть бути розділені на оптичні антиподи за відомими методами, наприклад, розділенням їх діастереомерних солей, отриманих з оптично активною кислотою або основою, та виділенням оптично активної кислотної або основної форми сполуки. Зокрема, таким чином може бути використаний фрагмент із лужними властивостями для розділення сполук даного винаходу на їхні оптичні антиподи, наприклад, дробовою кристалізацією солі, утвореної з оптично активною кислотою, наприклад, винною кислотою, дибензоїлвинною кислотою, діацетилвинною кислотою, ди-О, О'-п-толуоїлвинною кислотою, мигдальною кислотою, яблучною кислотою або камфор-10-

сульфоною кислотою. Рацемічні продукти можуть бути також розділені хіральною хроматографією, наприклад, високоефективною рідинною хроматографією (ВЕРХ) з використанням хірального адсорбенту.

Більше того, сполуки даного винаходу, у тому числі їх солі, можуть бути також отримані у формі їх гідратів або включати інші розчинники, використовувані для їхньої кристалізації. Сполуки даного винаходу, за своєю природою або за задумом, можуть утворювати сольвати з фармацевтично прийнятними розчинниками (у тому числі з водою); тому, передбачається, що винахід охоплює як сольватовані, так і несольватовані форми. Термін "сольват" відноситься до молекулярного комплексу сполук даного винаходу (у тому числі їх сольових або цвітеріонних форм) з однією або більше молекулами розчиннику. Такі молекули розчиннику являють собою ті молекули розчиннику, які звичайно використовують у фармацевтиці та із приводу яких відомо, що вони є безпечними для реципієнта, наприклад, вода, етанол та інші подібні розчинники. Термін "гідрат" відноситься до комплексу, у якому молекулою розчиннику є вода.

Сполуки даного винаходу, у тому числі їх солі, гідрати та сольвати, за своєю природою або за задумом, можуть утворювати поліморфи.

Використовувані у винаході терміни "сіль" або "солі" відносяться до солі приєднання кислоти або солі приєднання основи сполуки даного винаходу. "Солі" включають, зокрема, "фармацевтично прийнятні солі". Термін "фармацевтично прийнятні солі" відноситься до солей, які зберігають біологічну ефективність та властивості сполук цього винаходу та які, як правило, не є небажаними з біологічної або будь-якої іншої точки зору. У багатьох випадках, сполуки даного винаходу здатні утворювати солі з кислотами та/або основами завдяки присутності аміногруп та/або сульфатних груп або аналогічних їм груп.

Фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти або обмінні солі можуть бути утворені з неорганічними кислотами та органічними кислотами, наприклад, ацетатні, аспартатні, бензоатні, безилатні, бромідні/гідробромідні, бікарбонатні/карбонатні, бісульфатні/сульфатні, камфорсульфонатні, хлоридні/гідрохлоридні, хлортеофілонатні, цитратні, етандисульфатні, фумаратні, глюцептатні, глюконатні, глюкуронатні, гіпуратні, гідройодидні/йодидні, ізетіонатні, лактатні, лактобіонатні, лаурилсульфатні, малатні, малеатні, малонатні, манделатні, мезилатні, метилсульфатні, нафтоатні, напсилатні, нікотинатні, нітратні, октадеканоатні, олеатні, оксалатні, пальмітатні, памоатні, фосфатні/гідрофосфатні/дигідрофосфатні, полігалактуронатні, пропіонатні, стеаратні, сукцинатні, сульфосаліцилатні, тартратні, тозилатні та трифторацетатні солі.

Неорганічні кислоти або "аніонні групи", які можуть бути введені або з яких можуть бути утворені солі, включають, наприклад, хлористоводневу кислоту, бромистоводневу кислоту, сірчану кислоту, азотну кислоту, фосфорну кислоту та інші подібні неорганічні кислоти.

Органічні кислоти або "аніонні групи", які можуть бути введені або з яких можуть бути утворені солі, включають, наприклад, оцтову кислоту, пропіонову кислоту, гліколеву кислоту, щавлеву кислоту, малеїнову кислоту, малонову кислоту, бурштинову кислоту, фумарову кислоту, винну кислоту, лимонну кислоту, бензойну кислоту, мигдальну кислоту, метансульфову кислоту, етансульфову кислоту, толуолсульфову кислоту, сульфосаліцилову кислоту та інші подібні органічні кислоти. Фармацевтично прийнятні солі приєднання основи або обмінні солі можуть бути утворені з неорганічними та органічними основами.

Неорганічні основи або "катионні групи", які можуть бути введені або з яких можуть бути утворені солі, включають, наприклад, солі амонію та металів з I-XII груп Періодичної таблиці. У конкретних варіантах здійснення, солі утворюють з катионних груп - натрію, калію, амонію, кальцію, магнію, заліза, срібла, цинку та міді; особливо підходящі солі включають солі амонію, калію, натрію, кальцію та магнію.

Органічні основи або "катионні групи", які можуть бути введені або з яких можуть бути утворені солі, включають, наприклад, первинні, вторинні та третинні аміни, заміщені аміни, у тому числі природні заміщені аміни, циклічні аміни, іонообмінні смоли основної природи та інші подібні органічні основи. Конкретні органічні аміни включають ізопропіламін, бензатин, холінат, діетаноламін, діетиламін, лізін, меглумін, піперазин та трометамін.

Солі даного винаходу можуть бути синтезовані із фрагменту з лужними або кислотними властивостями за традиційними хімічними методами. Звичайно, такі солі можуть бути отримані за реакцією цих сполук у формі вільної кислоти зі стехіометричною кількістю відповідної основи (такої як гідроксид, карбонат, бікарбонат Na, Ca, Mg або K або інші подібні основи), або реакцією цих сполук у формі вільної основи зі стехіометричною кількістю відповідної кислоти. Переважно, сіль сполуки даного винаходу, така як амонійна сіль, може бути піддана дії іонообмінної смоли у її формі з лужним металом або лужно-земельним металом для сприяння

протиіонному обміну. Солі приєднання кислоти або обмінні солі сполук даного винаходу одержують за загальноприйнятими методами, наприклад, шляхом обробки сполук за допомогою кислоти або підходящого аніоно-обмінного реагенту. Цвітеріони або внутрішні солі сполук даного винаходу, що містять кислотні та основні солеутворюючі групи, наприклад, вільну сульфатну групу та вільну аміно групу, можуть бути утворені, наприклад, шляхом нейтралізації солей, таких як солі приєднання кислоти, до ізоелектричної точки, наприклад, за допомогою слабких основ, або шляхом обробки іонообмінниками. Такі реакції звичайно проводять у воді або у органічному розчиннику, або у суміші води та органічного розчиннику. Звичайно, за можливості, використовують неводне середовище, таке як ефір, етилацетат, етанол, ізопропанол або ацетонітрил. Додаткові приклади підходящих солей можна знайти, наприклад, у керівництвах "Remington's Pharmaceutical Sciences", 20th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985) та "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" by Stahl and Wermuth (Wiley-vch, Weinheim, Germany, 2002).

Крім того, передбачається, що будь-яка наведена у винаході формула представляє як немічені форми, так і ізотопно мічені форми сполук даного винаходу. Ізотопно мічені сполуки мають структури, зображувані у винаході формулами, за виключенням того, що один або більше атомів замінений атомом, що має обрану атомну масу або масове число. Приклади ізотопів, які можуть бути введені у сполуки винаходу, включають ізотопи водню, вуглецю, азоту, кисню, фосфору, фтору та хлору, такі як ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{125}I , відповідно. Винахід включає різні ізотопно мічені сполуки даного винаходу, наприклад, сполуки, у яких є присутніми радіоактивні ізотопи, такі як ^3H та ^{14}C , або сполуки, у яких є присутніми нерадіоактивні ізотопи, такі як ^2H та ^{13}C . Такі ізотопно мічені сполуки застосовують при дослідженні метаболізму (за допомогою ^{14}C), при дослідженні кінетики реакцій (за допомогою, наприклад, ^2H або ^3H), у методах детектування або візуалізації, таких як позитрон-емісійна томографія (PET) або однофотонна емісійна комп'ютерна томографія (SPECT), у тому числі у дослідженнях розподілу лікарського засобу або субстрату у тканинах, або при радіоактивній терапії. Зокрема, ^{18}F мічена сполука даного винаходу може бути особливо затребувана при дослідженнях методами PET або SPECT. Ізотопно мічені сполуки даного винаходу, як правило, можуть бути отримані за традиційними методами, відомими спеціалістам у цій галузі, або методами, аналогічними тим, які описані у прикладах, що приводяться у винаході, та синтезах, використовуючи відповідний ізотопно мічений реагент замість раніше використовуваного неміченого реагенту.

Крім того, заміщення за допомогою більш важких ізотопів, зокрема, за допомогою дейтерію (тобто, ^2H або D), може надавати визначені терапевтичні переваги, обумовлені більш високою метаболічною стабільністю, наприклад, збільшенням *in vivo* періоду напіввиведення або зменшенням необхідної дози або поліпшенням терапевтичного індексу. Слід мати на увазі, що дейтерій у цьому контексті розглядається як замісник для сполуки даного винаходу. Концентрацію такого більш важкого ізотопу, зокрема, дейтерію, можна охарактеризувати за допомогою фактору ізотопного збагачення. Використовуваний у винаході термін "фактор ізотопного збагачення" позначає відношення вмісту ізотопу у сполуці до поширеності зазначеного ізотопу у природі. Якщо замісник у сполуці цього винаходу позначений дейтерієм, тоді така сполука має фактор ізотопного збагачення для кожного позначеного атому дейтерію, щонайменше, 3500 (52,5 % введення дейтерію на кожен позначений атом дейтерію), щонайменше, 4000 (60 % введення дейтерію), щонайменше, 4500 (67,5 % введення дейтерію), щонайменше, 5000 (75 % введення дейтерію), щонайменше, 5500 (82,5 % введення дейтерію), щонайменше, 6000 (90 % введення дейтерію), щонайменше, 6333,3 (95 % введення дейтерію), щонайменше, 6466,7 (97 % введення дейтерію), щонайменше, 6600 (99 % введення дейтерію) або, щонайменше, 6633,3 (99,5 % введення дейтерію).

Фармацевтично прийнятні сольвати згідно з винаходом включають сольвати, у яких розчинник кристалізації може бути ізотопно заміщений, наприклад, на D_2O , d_6 -ацетон, d_6 -ДМСО.

Сполуки даного винаходу, які містять групи, здатні виконувати функції донорів та/або акцепторів для водневих зв'язків, можуть утворювати співкристали з відповідними речовинами, що утворюють співкристали. Ці співкристали можуть бути отримані зі сполук даного винаходу за відомими методами формування співкристалів. Такі методи включають подрібнювання, нагрівання, спільну сублімацію, спільне плавлення або контактування у розчині сполук даного винаходу з речовиною, що утворює співкристали, при умовах кристалізації та виділення утворених таким способом співкристалів. Підходящі речовини, що утворюють співкристали, включають речовини, описані у патентному документі WO 2004/078163. Отже, винахід додатково пропонує співкристали, що включають сполуку даного винаходу.

Усі описані у винаході методи можуть бути здійснені у будь-якому підходящому порядку,

якщо у винаході не зазначене інакше, або ж це однозначно не суперечить контексту. Використання у винаході будь-яких прикладів або ілюстративних виразів (наприклад "такий як") має своєю метою тільки більш докладне пояснення винаходу та не накладає на обсяг винаходу або ж пункти формули винаходу ніяких обмежень.

Даний винахід пропонує нові сполуки, фармацевтичні композиції, що включають сполуки, та способи лікування грамнегативних бактеріальних інфекцій. Зокрема, сполуки можуть застосовуватися для лікування інфекцій, викликаних бактеріями *Burkholderia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Bacteroides*, *Campylobacter*, *Neisseria* або *Stenotrophomonas*, у тому числі названими у винаході видами.

Заміщення за допомогою більш важких ізотопів, таких як дейтерій, тобто ^2H , може надавати визначені терапевтичні переваги, обумовлені більш високою метаболічною стабільністю, наприклад, збільшенням *in vivo* періоду напіввиведення або зменшенням необхідної дози, та, отже, може бути кращим за деяких обставин. Наприклад, дейтерієве заміщення по необхідних вуглеводневих зв'язках (наприклад, C-H) може уповільнювати епімеризацію та/або метаболічне окиснення *in vivo*.

Ізотопно мічені сполуки винаходу, тобто сполуки формули (I), можуть бути, як правило, отримані за традиційними методами, відомими спеціалістам у цій галузі, або методами, аналогічними тим, які описані у прикладах, що приводяться у винаході, та синтезах, використовуючи відповідний ізотопно мічений реагент замість раніше використовуваного неміченого реагенту.

У ще одному аспекті, винахід забезпечує спосіб лікування суб'єкта з бактеріальною інфекцією, де спосіб включає стадію введення суб'єкту, якщо це для нього необхідно, антибактеріально ефективної кількості сполуки винаходу, наприклад, сполуки Формули (A) або її солі, з фармацевтично прийнятним носієм, у комбінації з бета-лактамним антибіотиком. Підходящі бета-лактамні антибіотики для застосування у цих способах включають, не обмежуючись наведеними, пеніциліни, такі як пеніцилін G, пеніцилін V, метицилін, оксацилін, клоксацилін, диклоксацилін, нафцилін, ампіцилін, амоксицилін, карбеніцилін, тікарцилін, мезлоцилін, піперацилін, азлоцилін, темоцилін, цефалоспорины, такі як цефалосин, цефепірин, цефрадин, цефалоридин, цефазолін, цефамандол, цефутоксим, цефалексин, цефпрозил, цефаклор, лоракарбеф, цефокситин, цефінетазол, цефотаксім, цефтизоксим, цефтріаксон, цефоперазон, цефтазидим, цефіксим, цефподоксим, цефтибутен, цефдинір, цефпіром, цефепім, цефтолозан; карбапенеми, такі як доріпенем, іміпенем, меропенем, паніпенем, біапенем; та монобактами, такі як азтреонам, та бета-лактам 5, який розкритий у цьому описі.

"Ефективна кількість" сполуки даного винаходу являє собою кількість, яка по суті посилює активність бета-лактамного антибіотику, використовуваного у комбінації зі сполукою даного винаходу, наприклад, кількість, яка робить антибіотик щонайменше у чотири рази більш активним проти цільової бактерії, тобто кількість, яка знижує мінімальну інгібуючу концентрацію (або "мінімальна інгібуюча концентрація", "MIC") для цільової бактерії у щонайменше 4 рази та переважно у щонайменше 8 разів.

"Ефективна кількість" комбінації BLI плюс бета-лактамний антибіотик, як використано у цьому описі, відноситься до кількості, ефективною для лікування бактеріальної інфекції у суб'єкта, як правило, людини. Ефективна кількість залежить від сприйнятливості інфікуючої бактерії до вибраного антибіотику та від ступеню потенціювання, що забезпечується BLI, використовуваним у комбінації. Кваліфікований фахівець може визначити ефективну кількість такої комбінації, враховуючи параметри суб'єкта, якого необхідно лікувати, інфікуючу бактерію та використовувану комбінацію, яка може включати визначення MIC для певної комбінації на цільову бактерію. Як правило, бактерія, від якої лікують, являє собою таку, яка є резистентною до щонайменше деяких бета-лактамних антибіотиків, тому що бактерія експресує бета-лактамазну активність.

Сполуки винаходу також застосовують при лікуванні пацієнтів, що страждають на або схильні до шкірних інфекцій, пневмонії, сепсису, кистозного фіброзу, утворення ран, ускладнень при діабетичній стопі, ускладнень інтраабдомінальних інфекцій або ускладнень при інфекції сечовивідних шляхів та захворювань, що передаються статевим шляхом, викликаних грамнегативними або позитивними патогенами. Сполуки винаходу також застосовують при станах, які викликані видами бактерій *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bacteroides*, *Burkholderia*, *Campylobacter*, *Neisseria* або *Stenotrophomonas*. Зокрема, способами винаходу піддають лікуванню бактеріальну інфекцію, викликану видами бактерій *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Pseudomonas* або *Acinetobacter*.

Конкретні види бактерій для такого лікування включають *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter faecalis*, *Enterobacter faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella species*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Acinetobacter baumannii*, а також *Bacteroides fragilis*,
 5 *Burkholderia cepacia*, *Campylobacter jejuni*, *Neisseria gonorrhoeae* та *Stenotrophomonas maltophilia*.

Під терміном "комбінація" мають на увазі або комбінований препарат у вигляді лікарської форми з разовою дозою, або набір або інструкції для спільного введення, при якому сполука даного винаходу та другий засіб - бета-лактамний антибіотик у комбінації можуть бути введені
 10 незалежно або разом у один і той же момент часу або окремо через проміжки часу, що, зокрема, дозволяє лікарським засобам, що входять у комбінацію, виявляти спільну, наприклад, синергетичну дію, або будь-яку комбінацію їх дій.

Варіант здійснення даного винаходу забезпечує сполуки даного винаходу у фармацевтичній комбінації з бета-лактамним антибіотиком та третім терапевтичним засобом. У деяких варіантах здійснення, третій терапевтичний засіб являє собою додатковий антибактеріальний засіб. У
 15 деяких варіантах здійснення, комбінація включає щонайменше один інший антибактеріальний агент, який може являти собою інший бета-лактамний антибіотик або інший антибактеріальний агент, вибраний з класів, описаних нижче. Необмежуючі приклади додаткових антибактеріальних засобів для застосування у фармацевтичних комбінаціях винаходу можуть
 20 бути вибрані з наступних груп:

(1) макроліди або кетоліди, такі як еритроміцин, азитроміцин, кларитроміцин та телітроміцин;

(2) бета-лактамні антибіотики, включаючи пеніцилін, такий як пеніцилін г, пеніцилін V, метицилін, оксацилін, флоксацилін, диклоксацилін, нафцилін, ампіцилін, амоксицилін,
 25 карбеніцилін, тікарцилін, мезлоцилін, піперацилін, азлоцилін, темоцилін, цефалоспорин, такий як цефалосин, цефепірим, цефрадин, цефалоридин, цефазолін, цефамандол, цефуроксим, цефалексин, цефпрозил, цефаклор, лоракарбеф, цефокситин, цефінетазол, цефотаксім, цефтизоксим, цефтріаксон, цефоперазон, цефтазидим, цефіксим, цефподоксим, цефтибутен, цефдинір, цефпіром, цефепім, цефтолозан, та карбапенеми, такі як доріпенем, іміпенем,
 30 меропенем, паніпенем, та монобактами, такі як азтреонам, та бета-лактам 5, розкритий у цьому описі;

(3) глікопептиди, такі як ванкоміцин та тейкопланін;

(4) хінолони, такі як налідиксова кислота, оксолінова кислота, норфлоксацин, пефлоксацин, еноксацин, офлоксацин, левофлоксацин, ципрофлоксацин, темафлоксацин, ломефлоксацин,
 35 флероксацин, грепафлоксацин, спарфлоксацин, тровафлоксацин, клінафлоксацин, гатифлоксацин, моксифлоксацин, ситафлоксацин, ганефлоксацин, геміфлоксацин, дельтафлоксацин та пазуфлоксацин;

(5) антибактеріальні сульфонаміди та антибактеріальні сульфаніламідні, у тому числі пара-амінобензойна кислота, сульфадіазин, сульфізоксазол, сульфаметоксазол та сульфаталідин;

(6) аміноглікозиди, такі як стрептоміцин, неоміцин, канаміцин, пароміцин, гентаміцин, тобраміцин, амікацин, нетилміцин, спектиноміцин, сизоміцин, дибекалін, плазоміцин та ізепаміцин;

(7) тетрацикліни, такі як тетрациклін, хлортетрациклін, демеклоциклін, міноциклін, окситетрациклін, метациклін, доксициклін, тигециклін та еравациклін;

(8) рифаміцини, такі як рифампіцин (що також називається рифампіном), рифапентин, рифабутин, безоксазинорифаміцин та рифаксимін;

(9) лінкозаміди, такі як лінкоміцин та кліндаміцин;

(10) стрептограміни, такі як хінупристин та дафлопристин;

(11) оксазолідинони, такі як лінезолід або тедизолід;

(12) поліміксин, колістин та коліміцин;

(13) триметоприм та бацитрацин; та

(14) інгібітори ефлюксного насосу;

(15) інгібітори бета-лактамази, такі як інгібітори метало-бета-лактамази.

Бета-лактам або другий антибактеріальний засіб може бути введений у комбінації зі
 55 сполуками даного винаходу, де бета-лактам або другий антибактеріальний засіб вводять до, одночасно або після сполуки або сполуки даного винаходу. Коли бажане одночасне введення сполуки винаходу із другим лікарським засобом, та спосіб введення є одним і тим же, тоді у цьому випадку зі сполуки винаходу та другого або третього лікарського засобу може бути приготовлена тільки одна єдина лікарська форма. Прикладом лікарської форми, що містить
 60 сполуку винаходу та другий або третій лікарський засіб, є внутрішньовенна ін'єкція.

Альтернативним прикладом є внутрішньом'язова ін'єкція розчину, що включає сполуку винаходу та другий або третій лікарський засіб.

Описані у винаході сполуки та композиції можуть бути використані або введені у комбінації з бета-лактамом та одним або більше терапевтичними засобами, які діють як імуномодулятори, наприклад, ко-стимулююча молекула або інгібітор імуноінгібуючої молекули або вакцина. Білок запрограмованої загибелі клітини (PD-1) являє собою інгібуючий представник розширеного CD28/CTLA4 сімейства Т-клітинних регуляторів (Okaizaki et al. (2002) *Curr Opin Immunol* 14: 391779-82; Bennett et al. (2003) *J. Immunol.* 170:711-8). PD-1 експресує на активованих В-клітинах, Т-клітинах та моноцитах. PD-1 являє собою імуноінгібуючий білок, який негативно регулює TCR сигнали (Ishida, Y. et al. (1992) *EMBO J.* 11:3887-3895; Blank, C. et al. (Epub 2006 Dec. 29) *Immunol. Immunother.* 56(5):739-745), та він активований при хронічних інфекціях. Взаємодія між PD-1 та PD-L1 може виконувати функцію імунної контрольної точки, яка може приводити, наприклад, до зменшення інфільтруючих лімфоцитів, зменшення проліферації, опосередкованої Т-клітинним рецептором та/або до вислизання ракових або інфікованих клітин від імунологічного нагляду (Dong et al. (2003) *J. Mol. Med.* 81:281-7; Blank et al. (2005) *Cancer Immunol. Immunother.* 54:307-314; Konishi et al. (2004) *Clin. Cancer Res.* 10:5094-100). Пригнічення імунітету може бути спрямоване у зворотну сторону шляхом інгібування локальної взаємодії PD-1 з PD-L1 або PD-L2; ефект є адитивним, коли також блокується взаємодія PD-1 з PD-L2 (Iwai et al. (2002) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 99:12293-7; Brown et al. (2003) *J. Immunol.* 170:1257-66). Імуномодуляція може бути досягнута шляхом зв'язування або імуноінгібуючого білку (наприклад, PD-1), або зв'язуючих білків, які модулюють інгібуючий білок (наприклад, PD-L1, PD-L2).

У одному варіанті здійснення, комбіновані терапії винаходу включають імуномодулятор, який являє собою інгібітор або антагоніст інгібуючої молекули у молекулі імунної контрольної точки. У іншому варіанті здійснення, імуномодулятор зв'язує білок, який у нормі інгібує імуноінгібуючу молекулу контрольної точки. При використанні у комбінації з антибактеріальними сполуками, ці імуномодулятори можуть підсилювати протимікробну відповідну реакцію, та, отже, підвищувати ефективність у порівнянні з лікуванням тільки однією антибактеріальною сполукою.

Термін "імунна контрольна точка" відноситься до групи молекул на клітинній поверхні CD4 та CD8 Т-клітин. Ці молекули можуть ефективно слугувати як "гальма" з метою знижувального модулювання або інгібування адаптивної імунної реакції. Молекули імунної контрольної точки включають, але цим не обмежуючи, молекулу запрограмованої загибелі клітини 1 (PD-1), антиген 4 цитотоксичних Т-лімфоцитів (CTLA-4), B7H1, B7H4, OX-40, CD137, CD40 та LAG3, які безпосередньо інгібують імуноцити. Імунотерапевтичні засоби, які можуть діяти як інгібітори імунної контрольної точки, застосовувані у способах даного винаходу, включають, але цим не обмежуючись, інгібітори PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 та/або TIGIT бета. Інгібування інгібуючої молекули може бути здійснене шляхом інгібування на рівні ДНК, РНК або білку. У деяких варіантах здійснення, інгібуюча нуклеїнова кислота (наприклад, дволанцюгова РНК, коротка інтерферуюча РНК або коротка шпилькова РНК) може бути використана для інгібування експресії інгібуючої молекули. У інших варіантах здійснення, інгібітор інгібуючого сигналу являє собою поліпептид, наприклад, розчинний ліганд, або антитіло або його антиген-зв'язуючий фрагмент, який зв'язує інгібуючу молекулу.

Використання виразу "у комбінації з" не означає, що терапія повинна бути проведена або терапевтичні засоби повинні бути введені у один і той же момент часу, та/або терапевтичні засоби повинні бути приготовлені для доставки у вигляді однієї загальної лікарської форми, хоча ці способи доставки є частиною винаходу. Імуномодулятор може бути введений одночасно, до або після однієї або більше сполук винаходу, та бета-лактамного засобу та, необов'язково, однієї або більше додаткових терапій або одного або більше додаткових терапевтичних засобів. Терапевтичні засоби у комбінації можуть бути введені у будь-якому порядку. Звичайно, кожен засіб буде вводитися при дозі та/або за тимчасовою схемою, визначеною для цього лікарського засобу. Слід також мати на увазі, що терапевтичні засоби, використовувані у цій комбінації, можуть бути введені разом у одній єдиній композиції або введені окремо у різних композиціях. Звичайно, передбачається, що кожен з терапевтичних засобів, використовуваних у комбінації, буде застосовуватися у дозах, які не перевищують дози, при яких ці терапевтичні засоби застосовують індивідуально. У деяких варіантах здійснення, дози, застосовувані у комбінації, будуть нижче, ніж дози при індивідуальному застосуванні терапевтичного засобу.

У конкретних варіантах здійснення, описаний у винаході бета-інгібітор вводять у комбінації з бета-лактамом та одним або більше імуномодуляторами, які являють собою інгібітори PD-1, PD-L1 та/або PD-L2. Кожен такий інгібітор може являти собою антитіло, антиген-зв'язуючий

фрагмент антитіла, імуноадгезин, гібридний білок або олігопептид. Приклади таких імуномодуляторів добре відомі.

У деяких варіантах здійснення, імуномодулятор являє собою антитіло проти PD-1, вибране з MDX-1106, Merck 3475 або CT-011.

5 У деяких варіантах здійснення, імуномодулятор являє собою імуноадгезин (наприклад, імуноадгезин, що включає позаклітинну або PD-1 зв'язуючу частину PD-L1 або PD-L2, злитих з константною областю (наприклад, Fc областю послідовності імуноглобуліну).

У деяких варіантах здійснення, імуномодулятор являє собою інгібітор PD-1, такий як AMP-224.

10 У деяких варіантах здійснення, імуномодулятор являє собою інгібітор PD-L1, такий як антитіло проти PD-L1.

У деяких варіантах здійснення, імуномодулятор являє собою антагоніст зв'язування анти-PD-L1, вибраний з YW243,55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C або MDX-1105. MDX-1105, також відомий як BMS-936559, являє собою антитіло проти PD-L1, описане у патентному документі WO2007/005874. Антитіло YW243,55.S70 являє собою анти-PD-L1, описаний у патентному документі WO 2010/077634.

У деяких варіантах здійснення, імуномодулятор являє собою ніволумаб (CAS Registry Number: 946414-94-4). Інші назви для ніволумабу включають MDX-1106, MDX-1106-04, ONO-4538 або BMS-936558. Ніволумаб являє собою повнорозмірне людське IgG4 моноклональне антитіло, яке специфічно блокує PD-1. Ніволумаб (клон 5C4) та інші людські моноклональні антитіла, які специфічно зв'язують PD-1, розкриті у патентних документах US 8008449, EP2161336 та WO2006/121168.

У деяких варіантах здійснення, імуномодулятор являє собою антитіло проти PD-1 пембролізумаб. Пембролізумаб (що також називається ламброзизумабом, MK-3475, MK03475, SCH-900475 або KEYTRUDA®; Merck) являє собою гуманізоване IgG4 моноклональне антитіло, яке зв'язує PD-1. Пембролізумаб та інші гуманізовані антитіла проти PD-1 розкриті у публікації Hamid, O. et al. (2013) New England Journal of Medicine 369 (2): 134-44, у патентних документах US 8354509, WO2009/114335 та WO2013/079174.

У деяких варіантах здійснення, імуномодулятор являє собою підилізумаб (CT-011; Cure Tech), гуманізоване IgG1k моноклональне антитіло, яке зв'язує PD1. Підилізумаб та інші гуманізовані моноклональні антитіла проти PD-1 розкриті у патентному документі WO2009/101611.

Інші антитіла проти PD-1, використовувані як імуномодулятори для застосування у розкритих у винаході способах, включають AMP 514 (ампліммун) та антитіла проти PD1, розкриті у патентних документах US 8609089, US 2010028330, та/або US 20120114649. У деяких варіантах здійснення, антитіло проти PD-L1 являє собою MSB0010718C. MSB0010718C (що також називається як A09-246-2; Merck Serono) являє собою моноклональне антитіло, яке зв'язує PD-L1.

У деяких варіантах здійснення, імуномодулятор являє собою MDPL3280A (Genentech/Roche), людське Fc оптимізоване IgG1 моноклональне антитіло, яке зв'язує PD-L1. MDPL3280A та інші людські моноклональні антитіла для PD-L1 розкриті у патентних документах – Патент США № 7943743 та Публікація США № 20120039906. Інші анти-PD-L1 зв'язуючі засоби, застосовувані як імуномодулятори для способів винаходу, включають YW243.55.S70 (дивись патентний документ WO2010/077634), MDX-1105 (що також називається BMS-936559), та анти-PD-L1 зв'язуючі засоби, розкриті у патентному документі WO2007/005874.

У деяких варіантах здійснення, імуномодулятор являє собою AMP-224 (B7-DCIg; ампліммун; наприклад, розкритий у патентних документах WO2010/027827 та WO2011/066342), PD-L2 Fc гібридний розчинний рецептор, який блокує взаємодію між PD1 та B7-H1.

У деяких варіантах здійснення, імуномодулятор являє собою антитіло проти LAG-3, таке як BMS-986016. BMS-986016 (що також називається BMS986016) являє собою моноклональне антитіло, яке зв'язує LAG-3. BMS-986016 та інші гуманізовані антитіла проти LAG-3 розкриті у патентних документах US 2011/0150892, WO2010/019570 та WO2014/008218.

У конкретних варіантах здійснення, розкриті у винаході комбіновані терапії включають модулятор ко-стимулюючої молекули або інгібуючої молекули, наприклад, ко-інгібуючого ліганду або рецептору.

У одному варіанті здійснення, ко-стимулюючий модулятор, наприклад, агоніст, ко-стимулюючої молекули вибирають з агоністу (наприклад, агоністичного антитіла або антиген-зв'язуючого фрагменту антитіла, або розчинного продукту злиття) OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3 або CD83 ліганду.

У іншому варіанті здійснення, розкриті у винаході комбіновані терапії включають імуномодулятор, який являє собою ко-стимулюючу молекулу, наприклад, агоніст, асоційований з позитивним сигналом, який включає ко-стимулюючий домен CD28, CD27, ICOS та/або GITR.

Приклади агоністів GITR включають, наприклад, GITR гібридні білки та антитіла проти GITR (наприклад, двовалентні антитіла проти GITR), такі як GITR гібридний білок, описаний у патентних документах: Патент США № 6111090, Європейський Патент № 090505B1, Патент США № 8586023, РСТ Публікації №№ WO 2010/003118 та 2011/090754, або антитіло проти GITR, описане, наприклад, у патентних документах: Патент США № 7025962, Європейський Патент № 1947183B1, Патент США № 7812135, Патент США № 8388967, Патент США № 8591886, Європейський Патент № EP 1866339, РСТ Публікація № WO 2011/028683, РСТ Публікація № WO 2013/039954, РСТ Публікація № WO2005/007190, РСТ Публікація № WO 2007/133822, РСТ Публікація № WO2005/055808, РСТ Публікація № WO 99/40196, РСТ Публікація № WO 2001/03720, РСТ Публікація № WO99/20758, РСТ Публікація № WO2006/083289, РСТ Публікація № WO 2005/115451, Патент США № 7618632 та РСТ Публікація № WO 2011/051726.

У одному варіанті здійснення, використовуваний імуномодулятор являє собою розчинний ліганд (наприклад, CTLA-4-Ig), або антитіло або фрагмент антитіла, які зв'язують PD-L1, PD-L2 або CTLA4. Наприклад, молекула антитіла проти PD-1 може бути введена у комбінації з антитілом проти CTLA-4, наприклад, іпілімумабом. Приклади антитіл проти CTLA4 включають тремелімумаб (IgG2 моноклональне антитіло фірми Pfizer, що раніше називалося тицілімумаб, CP-675,206); та іпілімумаб (CTLA-4 антитіло, також відоме як MDX-010, CAS No. 477202-00-9).

У одному варіанті здійснення, молекулу антитіла проти PD-1 вводять після обробки за допомогою описаної у винаході сполуки винаходу.

У іншому варіанті здійснення, молекулу антитіла проти PD-1 або PD-L1 вводять у комбінації з антитілом проти LAG-3 або його антиген-зв'язуючим фрагментом. У іншому варіанті здійснення, молекулу антитіла проти PD-1 або PD-L1 вводять у комбінації з антитілом проти TIM-3 або його антиген-зв'язуючим фрагментом. У ще одних варіантах здійснення, молекулу антитіла проти PD-1 або PD-L1 вводять у комбінації з антитілом проти LAG-3 та TIM-3 або його антиген-зв'язуючим фрагментом. Комбінація перерахованих у винаході антитіл може бути введена окремо, наприклад, у вигляді окремих антитіл, або зв'язана, наприклад, у вигляді молекули біспецифічного або триспецифічного антитіла. У одному варіанті здійснення, вводять біспецифічне антитіло, яке включає молекулу антитіла проти PD-1 або PD-L1 та антитіла проти TIM-3 або проти LAG-3, або його антиген-зв'язуючий фрагмент. У конкретних варіантах здійснення, комбінацію перерахованих у винаході антитіл застосовують для лікування раку, наприклад, описаного у винаході раку (наприклад, солідної пухлини). Ефективність зазначених вище комбінацій може бути випробувана на добре відомих моделях на тварин. Наприклад, моделі на тваринах для вивчення синергетичного ефекту антитіл проти PD-1 та проти LAG-3 описані, наприклад, у публікації Woo et al. (2012) Cancer Res. 72(4):917-27).

Приклади імуномодуляторів, які можуть застосовуватися у комбінованих терапіях, включають, але цим не обмежуючи, наприклад, афтузумаб (фірми Roche); перфилграстим (неуласта®); леналідомід (CC-5013, ревлімід®); талідомід (таломід®), актимід (CC4047); та цитокіни, наприклад, IL-21 або IRX-2 (суміш людських цитокінів, яка включає інтерлейкін 1, інтерлейкін 2, та інтерферон γ, CAS 951209-71-5, фірми IRX Therapeutics).

Приблизні дози таких імуномодуляторів, які можуть бути використані у комбінації з антибактеріальними сполуками винаходу, включають дозу молекули антитіла проти PD-1 від приблизно 1 до 10 мг/кг, наприклад, 3 мг/кг, та дозу антитіла проти CTLA-4, наприклад, іпілімумабу, приблизно 3 мг/кг.

Приклади варіантів здійснення способів застосування сполук винаходу у комбінації з бета-лактамним антибіотиком та імуномодулятором включають наступні.

i. Спосіб лікування бактеріальної інфекції у суб'єкта, що включає введення суб'єкту описаної у винаході сполуки формули (A) та імуномодулятору.

ii. Спосіб за варіантом здійснення i, де імуномодулятор являє собою активатор ко-стимулюючої молекули або інгібітор молекули імунної контрольної точки.

iii. Спосіб за обома варіантами здійснення i та ii, де активатор ко-стимулюючої молекули являє собою агоніст одного або більше з OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3 та CD83 лігандів.

iv. Спосіб за будь-яким з варіантів здійснення i-iii, де інгібітор молекули імунної контрольної точки вибирають з PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 та TGFR бета.

v. Спосіб за будь-яким з варіантів здійснення i-iii, де інгібітор молекули імунної контрольної точки вибирають з інгібітору PD-1, PD-L1, LAG-3, TIM-3 або CTLA4, або будь-якої їх комбінації.

vi. Спосіб за будь-яким з варіантів здійснення i-v, де інгібітор молекули імунної контрольної точки являє собою розчинний ліганд або антитіло або його антиген-зв'язуючий фрагмент, які зв'язують молекули імунної контрольної точки.

vii. Спосіб за будь-яким з варіантів здійснення i-vi, де антитіло або його антиген-зв'язуючий фрагмент відносяться до IgG1 або IgG4 (наприклад, людського IgG1 або IgG4).

viii. Спосіб за будь-яким з варіантів здійснення i-vii, де антитіло або його антиген-зв'язуючий фрагмент піддають змінам, наприклад, мутують, для збільшення або зменшення одного або більше з наступних показників: зв'язування з Fc рецептором, глікозилювання антитіла, число цистеїнових залишків, функція клітини-ефектору або функція комплементу.

ix. Спосіб за будь-яким з варіантів здійснення i-viii, де молекула антитіла являє собою молекулу біспецифічного або мультиспецифічного антитіла, яке має специфічність зв'язування у відношенні PD-1 або PD-L1 та другу специфічність зв'язування у відношенні TIM-3, LAG-3 або PD-L2.

x. Спосіб за будь-яким з варіантів здійснення i-ix, де імуномодулятор являє собою антитіло проти PD-1, вибране з ніволумабу, пембролізумабу або підилізумабу.

xi. Спосіб за будь-яким з варіантів здійснення i-x, де імуномодулятор являє собою антитіло проти PD-L1, вибране з YW243,55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C або MDX-1105.

xii. Спосіб за будь-яким з варіантів здійснення i-x, де імуномодулятор являє собою молекулу антитіла проти LAG-3.

xiii. Спосіб за варіантом здійснення xii, де молекула антитіла проти LAG-3 являє собою BMS-986016.

xiv. Спосіб за будь-яким з варіантів здійснення i-x, де імуномодулятор являє собою молекулу антитіла проти PD-1, що вводять шляхом ін'єкції (наприклад, підшкірно або внутрішньовенно) у дозі приблизно від 1 до 30 мг/кг, наприклад, приблизно від 5 до 25 мг/кг, приблизно від 10 до 20 мг/кг, приблизно від 1 до 5 мг/кг, або приблизно 3 мг/кг, наприклад, від одного разу на тиждень до одного разу кожні 2, 3 або 4 тижні.

xv. Спосіб за варіантом здійснення xiv, де молекулу антитіла проти PD-1 вводять у дозі приблизно від 10 до 20 мг/кг раз на два тижні.

xvi. Спосіб за варіантом здійснення xv, де молекулу антитіла проти PD-1, наприклад, ніволумаб, вводять внутрішньовенно у дозі приблизно від 1 мг/кг до 3 мг/кг, наприклад, приблизно 1 мг/кг, 2 мг/кг або 3 мг/кг, кожні два тижні.

xvii. Спосіб за варіантом здійснення xv, де молекулу антитіла проти PD-1, наприклад, ніволумаб, вводять внутрішньовенно у дозі приблизно 2 мг/кг з інтервалами у 3 тижні.

Термін "ефективна кількість" сполуки позначає таку кількість, яка необхідна або достатня для покращення ефективності бета-лактамного антибіотику, який використовують для лікування або профілактики бактеріальної інфекції та/або захворювання або стану, розкритого у цьому описі. Як приклад, ефективна кількість сполуки становить кількість, достатню для лікування бактеріальної інфекції у суб'єкта при дозуванні разом з бета-лактамом. Як інший приклад, ефективна кількість сполуки становить кількість, достатню для лікування бактеріальної інфекції, при дозуванні у комбінації з бета-лактамним антибіотиком, викликаній, не обмежуючись наведеними, видом Enterobacteriaceae та іншими подібними видами, у суб'єкта. Ефективна кількість може змінюватися в залежності від таких факторів, як розмір та маса суб'єкта, тип захворювання, характеристики бактеріального патогену, що викликає хворобу (наприклад, тип та рівень вироблення бета-лактамази), або конкретна сполука винаходу, а також бета-лактамний антибіотик, який необхідно використовувати разом зі сполукою даного винаходу. Наприклад, вибір сполуки винаходу може впливати на визначення "ефективної кількості". Будь-який спеціаліст у цій галузі здатний проаналізувати згадані вище фактори та визначити ефективну кількість сполук винаходу без проведення зайвих експериментів.

На визначення ефективної кількості може впливати схема введення лікарського засобу. Сполука винаходу може бути введена суб'єкту або до, або після виникнення бактеріальної інфекції. Звичайно, сполуку вводять суб'єкту, у якого діагностували наявність бактеріальної інфекції та який, тому, потребує лікування. Крім того, декілька розділених доз, а також рознесені у часі дози, можуть вводитися кожні 6 годин, кожні 8 годин, кожні 12 годин або щодня або послідовно або доза може безупинно вводитися інфузійно, або може являти собою болюсну ін'єкцію. Крім того, дози сполуки (сполук) винаходу можуть бути пропорційно збільшені або зменшені в залежності від виникаючих терапевтичних або профілактичних ситуацій. Звичайно, сполука винаходу може бути введена протягом, щонайменше, 5 днів, у більшості випадків, щонайменше, 7 днів, або, щонайменше, 10 днів, або, щонайменше, 14 днів, за допомогою 3 або

4 інфузій на день (кожні 6 або 8 годин).

Сполуки винаходу можуть застосовуватися при лікуванні описаних у винаході станів, розладів або захворювань або для виробництва фармацевтичних композицій, застосовуваних при лікуванні цих захворювань. Винахід пропонує способи застосування сполук даного винаходу при лікуванні цих захворювань або фармацевтичні препарати, що містять сполуки даного винаходу, для лікування цих захворювань.

Термін "фармацевтична композиція" включає засоби, що підходять для введення ссавцям, наприклад, людям. При введенні сполук даного винаходу у вигляді лікарських засобів ссавцям, наприклад, людям, вони можуть бути введені у чистому вигляді або у формі фармацевтичної композиції, що містить, наприклад, від 0,1 до 99,5 % (більш переважно, від 0,5 до 90 %) активного інгредієнту у комбінації з фармацевтично прийнятним носієм.

Термін "фармацевтично прийнятний носій" є загальноприйнятим у фармацевтиці та включає фармацевтично прийнятний матеріал, композицію або середовище, що підходять для введення сполуки даного винаходу ссавцям. Носії включають рідкий або твердий наповнювач, розріджувач, ексципієнт, розчинник або інкапсулюючий матеріал, що приймають участь у переносі або транспортуванні або заданого засобу з одного органу або частини організму у інший орган або частину організму. Кожен носій повинен бути "прийнятним" з погляду його сумісності з іншими інгредієнтами композиції та відсутності шкідливого впливу на пацієнта. Деякі приклади матеріалів, які можуть слугувати як фармацевтично прийнятні носії, включають цукри, такі як лактоза, глюкоза та сахароза; крохмалі, такі як кукурудзяний крохмаль та картопляний крохмаль; целюлозу та її похідні, такі як натрій карбоксиметилцелюлоза, етилцелюлоза та ацетат целюлози; порошкову трагакантову камедь; солод; желатин; тальк; допоміжні речовини, такі як масло какао та воски для супозиторіїв; масла, такі як арахісове масло, бавовняне масло, сафлорове масло, сезамове масло, маслинове масло, кукурудзяне масло та соєве масло; гліколі, такі як пропіленгліколь; поліолі, такі як гліцерин, сорбіт, маніт та поліетиленгліколь; складні ефіри, такі як етилолеат та етиллаурат; агар; буферні речовини, такі як гідроксид магнію та гідроксид алюмінію; альгінову кислоту; апірогенну воду; ізотонічний розчин; розчин Рінгера; етиловий спирт; розчини фосфатного буферу; та інші нетоксичні сумісні речовини, застосовувані у фармацевтичних композиціях. У деяких варіантах здійснення, фармацевтично прийнятний носій стерилізують перед змішуванням зі сполукою винаходу.

У деяких варіантах здійснення, фармацевтична композиція винаходу включає сполуку за будь-яким з перерахованих варіантів здійснення та, щонайменше, один фармацевтично прийнятний носій або ексципієнт. У конкретних варіантах здійснення, фармацевтична композиція винаходу включає сполуку за будь-яким з перерахованих варіантів здійснення та, щонайменше, два фармацевтично прийнятні носії або ексципієнти.

У композиціях можуть також бути присутніми зволожуючі засоби, емульгатори та змашувальні речовини, такі як лаурилсульфат натрію та стеарат магнію, а також консерванти та антиоксиданти.

Приклади фармацевтично прийнятних антиоксидантів включають водорозчинні антиоксиданти, такі як аскорбінна кислота, гідрохлорид цистеїну, бісульфат натрію, метабісульфіт натрію, сульфат натрію та інші подібні сполуки; розчинні у маслах антиоксиданти, такі як аскорбілпальмітат, бутильований гідроксианізол (ВНА), бутильований гідрокситолуол (ВНТ), лецитин, пропілгаллат, α -токоферол та інші подібні сполуки; та речовини, що утворюють хелати з металами, такі як лимонна кислота, етилендіамін-тетраоцтова кислота (ЕДТА), сорбіт, винна кислота, фосфорна кислота та інші подібні сполуки.

Лікарські форми даного винаходу включають лікарські форми, що підходять для перорального, назального, інгаляційного, місцевого, трансдермального, букального, сублінгвального, ректального, вагінального та/або парентерального введення. Звичайно, сполуки винаходу можуть бути введені внутрішньовенно, у формі розчину, який є часто ізотонічним, такого як фізіологічний розчин або розчин глюкози. Лікарські форми можуть із метою зручності являти собою лікарську форму з одноразовим дозуванням та можуть бути приготовлені за будь-якими добре відомими у фармацевтиці методами. Кількість активного інгредієнту, яка може бути об'єднана з матеріалом носія для приготування лікарської форми з одноразовим дозуванням, звичайно, буде становити таку кількість сполуки, яка викликає терапевтичний ефект. Звичайно, розраховуючи на сто відсотків, ця кількість буде становити від приблизно 1 відсотка до приблизно 99 відсотків активного інгредієнту, переважно, від приблизно 5 відсотків до приблизно 70 відсотків, найбільш переважно, від приблизно 10 відсотків до приблизно 30 відсотків.

Способи приготування цих лікарських форм або композицій включають стадію змішування сполуки даного винаходу з носієм та, необов'язково, одним або більше ексципієнтами.

Звичайно, лікарські форми готують шляхом однорідного та ретельного змішування сполуки даного винаходу з рідкими носіями.

Фармацевтичні композиції цього винаходу, застосовувані для парентерального введення, включають одну або більше сполук винаходу у комбінації з одним або більше фармацевтично прийнятними стерильними ізотонічними водними або неводними розчинами, дисперсіями, суспензіями або емульсіями, або зі стерильними порошками, які можуть бути відновлені у стерильні ін'єктуємі розчини або дисперсії безпосередньо перед застосуванням, які можуть містити антиоксиданти, буфери, бактеріостатичні засоби, розчинені компоненти, які надають композиції ізотонічність із кров'ю передбачуваного реципієнта, або суспендуючі засоби або загусники.

Приклади підходящих водних та неводних носіїв, які можуть бути використані у фармацевтичних композиціях винаходу, включають воду, етанол, поліоли (такі як гліцерин, пропіленгліколь, поліетиленгліколь та інші подібні поліоли), та підходящі їх суміші, рослинні масла, такі як маслинове масло, та ін'єктуємі органічні складні ефіри, такі як етилолеат. Відповідна текучість може бути забезпечена, шляхом використання матеріалів для покриття, таких як лецитин, шляхом підтримки потрібного розміру часток у випадку дисперсій, та шляхом використання поверхнево-активних речовин.

Ці композиції можуть також містити ексципієнти, такі як консерванти, зволожувачі, емульгатори та диспергуючі засоби. Запобігання дії мікроорганізмів може бути забезпечене шляхом введення різних антибактеріальних та протигрибкових засобів, наприклад, парабену, хлорбутанолу, фенолсорбінової кислоти та інших подібних речовин. Може бути також бажане вводити у композиції ізотонічні речовини, такі як цукри, хлорид натрію та інші подібні речовини. Крім того, може бути здійснена пролонгована абсорбція ін'єктуємої фармацевтичної форми у результаті додавання речовин, які уповільнюють абсорбцію, таких як моностеарат алюмінію та желатин.

Ін'єктуємі депо-форми готують шляхом формування мікрокапсульних матриць необхідних сполук у полімерах, які біорозкладаються, таких як полілактид-полігліколід. В залежності від співвідношення лікарського засобу та полімеру та природи конкретно використовованого полімеру, можна контролювати вивільнення лікарського засобу. Приклади інших полімерів, які біорозкладаються, включають поліортоєфіри та поліангідриди. Ін'єктуємі депо-форми часто готують шляхом включення лікарського засобу у ліпосоми або мікроемульсії, які сумісні із тканинами організму.

Препарати даного винаходу можуть бути введені перорально, парентерально, місцево або ректально. Зрозуміло, що їх вводять у тій формі, яка підходить для кожного способу введення. Наприклад, їх вводять у формі таблеток або капсули, ін'єкції, інгаляційного препарату, очної примочки, мазі, супозиторію та інших формах, шляхом введення за допомогою ін'єкції, інфузії або інгаляції; місцево у формі лосьйону або мазі; та ректально у формі супозиторіїв. Внутрішньовенне введення є кращим.

Використовувані у винаході фрази "парентеральне введення" та "що вводиться парентерально" звичайно означають способи введення шляхом ін'єкції, а не ентеральне та місцеве введення, та вони включають, без обмеження, внутрішньовенну, внутрішньом'язову, інтраартеріальну, інтратекальну, інтракапсулярну, інтраорбітальну, інтракардіальну, інтрадермальну, інтраперитонеальну, транстрахеальну, підшкірну, внутрішньошкірну, внутрішньосуглобну, підкапсулярну, субарахноїдальну, інтраспінальну та інтрастернальну ін'єкцію та інфузію.

Використовувані у винаході фрази "системне введення", "що вводиться системно", "периферичне введення" та "що вводиться периферично", прикладом яких є підшкірне введення, означають введення сполуки, лікарського засобу або іншого матеріалу, але не безпосередньо у центральну нервову систему, у результаті чого вони попадають у систему пацієнта та, отже, піддаються метаболізму та іншим подібним процесам.

Ці сполуки можуть бути введені людям та іншим тваринам з метою лікування за будь-яким підходящим шляхом введення, у тому числі внутрішньом'язовою ін'єкцією, перорально, назально, інгаляцією, наприклад, у формі спрею, ректально, інтравагінально, парентерально, інтрацистернально та місцево, у формі порошків, мазей або крапель, у тому числі букально та сублінгвально. У деяких варіантах втілення, сполуку даного винаходу вводять шляхом ін'єкції або інфузії, частіше шляхом інфузії, та вона може бути спів-введена разом з бета-лактамім антибіотиком. Зазначений бета-лактамім антибіотик може бути спів-введений за будь-яким підходящим шляхом; у деяких варіантах втілення, бета-лактамім антибіотик вводять перорально, та у інших варіантах втілення бета-лактамім антибіотик вводять шляхом ін'єкції або інфузії. Коли сполуку даного винаходу вводять разом з бета-лактамім антибіотиком та

обидва вводять однаковим шляхом, вони можуть бути необов'язково змішані для введення шляхом ін'єкції або шляхом інфузії, або вони можуть бути введені окремо, за умови, що інгібітор бета-лактамази системно вводиться суб'єкту, якого лікують, разом з бета-лактамний антибіотиком, таким чином може відбуватися потенціювання.

Незалежно від обраного способу введення, сполуки даного винаходу, які можуть бути застосовані у підходящій гідратованій формі, та/або фармацевтичні композиції даного винаходу готують у вигляді фармацевтично прийнятних лікарських форм за традиційними методами, добре відомими спеціалістам у цій галузі.

Реальні величини доз активних інгредієнтів у фармацевтичних композиціях даного винаходу можуть варіюватися таким чином, щоб забезпечувати кількість активного інгредієнту, яку дозволяє ефективно досягати необхідної терапевтичної відповідної реакції у випадку конкретного пацієнта, композиції та способу введення, при цьому не виявляючи токсичної дії на пацієнта.

Обрані величини доз будуть залежати від різноманітних факторів, у тому числі від активності конкретно використовуваної сполуки даного винаходу або її солі, способу введення, часу введення, швидкості екскреції конкретно використовуваної сполуки, тривалості лікування, інших лікарських засобів, сполук та/або матеріалів, застосовуваних у комбінації з конкретно використовуваною сполукою, віку, статі, маси, стану, загального стану здоров'я та анамнезу пацієнта, що піддається лікуванню, роду, виду та штаму бактеріального патогену, що спричиняє інфекцію, та від інших подібних факторів, добрі відомих спеціалістам у галузі медицини.

Звичайно підходяща добова доза сполуки винаходу буде становити таку кількість сполуки, яка є ефективною дозою для досягнення терапевтичного ефекту. Така ефективна доза буде, як правило, залежати від згаданих вище факторів. Звичайно, дози сполук цього винаходу для пацієнта при внутрішньовенному та підшкірному введенні, застосовувані у комбінації з бета-лактамом для досягнення зазначених антибактеріальних ефектів, будуть становити від приблизно 2 до приблизно 100 мг на кілограм маси тіла на добу, більш переважно, від приблизно 5 до приблизно 100 мг на кілограм на добу, та ще більш переважно, від приблизно 10 до приблизно 50 мг на кілограм на добу. Ефективна кількість являє собою таку кількість, яка дозволяє лікувати бактеріальну інфекцію при дозуванні у комбінації з бета-лактамним антибіотиком.

За необхідності, ефективна добова доза активної сполуки може бути введена у формі двох, трьох, чотирьох, п'яти, шести або більш субдоз, що вводяться окремо через відповідні інтервали часу протягом доби, необов'язково, у вигляді лікарських форм із одноразовим дозуванням, або у формі безперервної інфузії.

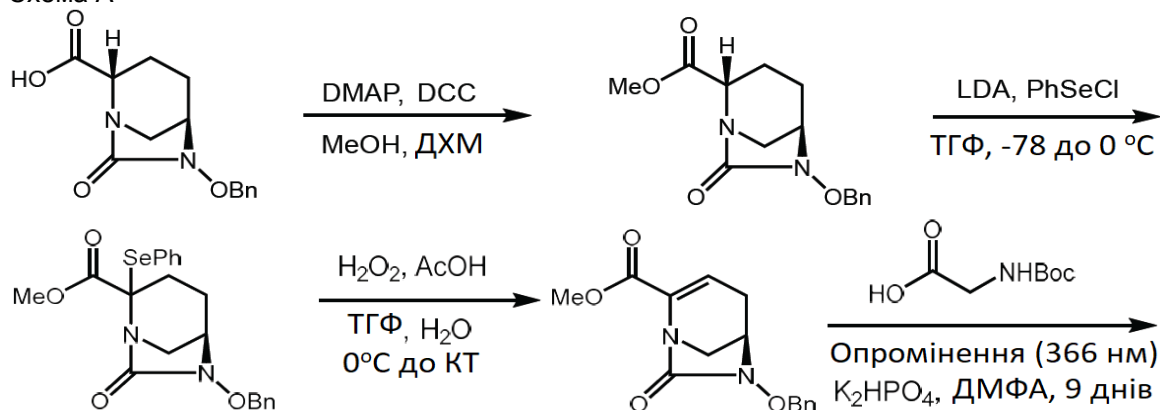
Незважаючи на те, що сполука даного винаходу може бути введена у чистому вигляді, проте, переважно вводиться сполуку у формі фармацевтичної композиції.

Обумовлені у варіантах здійснення сполуки можуть бути синтезовані за допомогою наведених нижче загальних методів синтезу, конкретні приклади яких описані більш докладно у розділі прикладів винаходу.

Загальні схеми синтезу

Один спосіб для синтезу сполуки Формули (I) показаний у наступних схемах реакції. Схема А ілюструє функціоналізацію відомого діазабіциклооктанового скелету у захищеній формі з одержанням аміноалкільної групи, як описано у робочих прикладах. Схема В ілюструє утворення конденсованого лактамного кільця, яке також проілюстроване Прикладами. Схема С ілюструє як лактам може бути легко N-алкільований з утворенням необов'язково-заміщеної алкільної групи.

Схема А



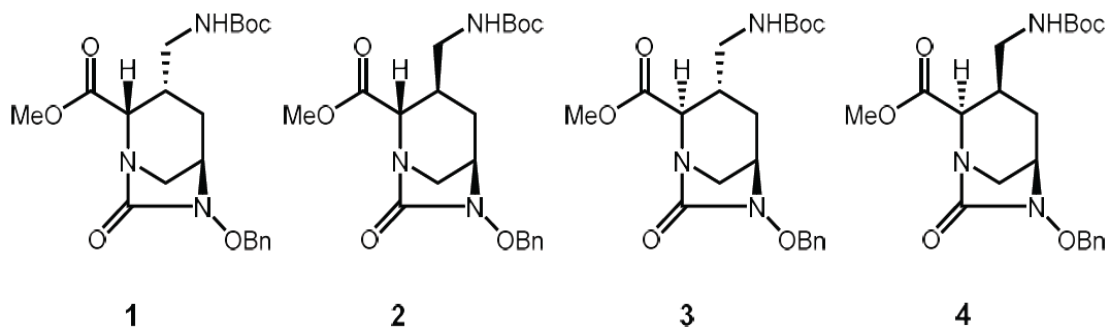
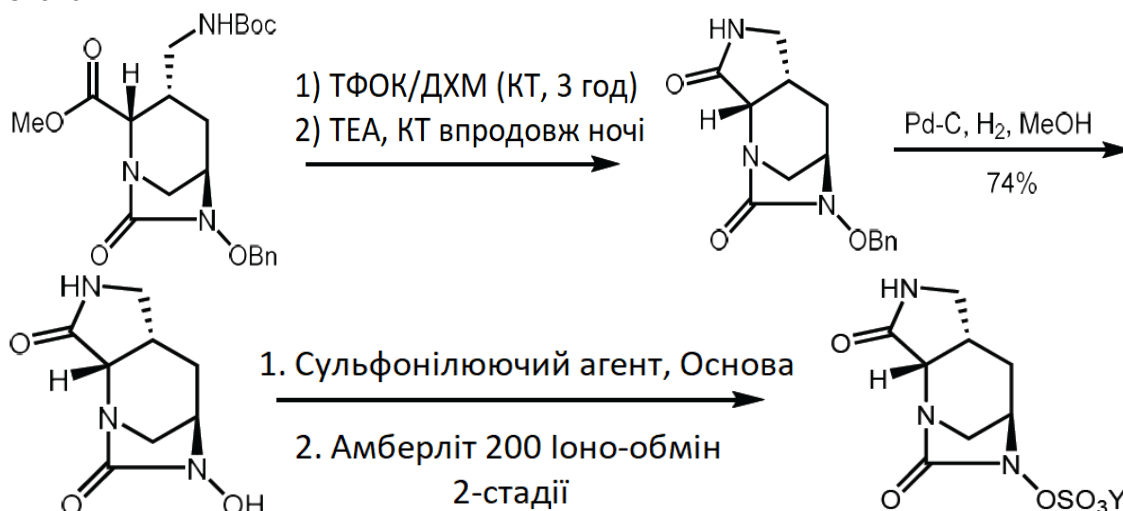


Схема В



5 Приклади сульфонілюючих агентів включають, не обмежуючись наведеними, комплекс триоксид сірки - піридин та подібні.

Приклади основ включають, не обмежуючись наведеними, піридин та подібні.

Приклади

10 Даний винахід додатково ілюструється наступними прикладами, які не слід розглядати як додаткові обмеження. Наведені результати проведених у прикладах досліджень. Демонстрація ефективності сполуками винаходу при проведенні цих досліджень дозволяє очікувати прояв ефективності цих сполук і у випадку їх застосування на пацієнтах.

Загальні умови

15 Мас-спектри реєстрували за допомогою систем LC-MS (рідинної хроматографії з мас-спектрометрією), SFC-MS (надкритичної флюїдної хроматографії з мас-спектрометрією) або GC-MS (газової хроматографії з мас-спектрометрією), використовуючи методи електророзпилення, хімічної іонізації та іонізації електронним ударом, на ряді приладів з наступною конфігурацією: система Waters ACQUITY UPLC та обладнана детектором ZQ 2000 або SQD мас-спектрометрична система, де (M+1) відноситься до протонованого молекулярного іону хімічного фрагменту, (M+) відноситься до непротонованого катіону четвертинного амонію, та (M-1) відноситься до депротонованого молекулярного іону хімічного фрагменту.

25 Спектри ЯМР реєстрували на ЯМР-спектрометрах Bruker BioSpin 600МГц, Bruker AVANCE 500 МГц або Varian 400 МГц, використовуючи інтерфейс ICON-ЯМР із програмним забезпеченням TopSpin. Спектри реєстрували при 298°K, якщо не зазначене інакше, відносно резонансу розчиннику.

Вимірювальні прилади
Методи мас-спектроскопії:

Метод 2m_acidic:

Колонка

Kinetex C18 50 × 2,1 мм, 2,6 мкм

Температура колонки

50 °C

Елюенти 0,1 % ТФОК

A: H₂O, B: ацетонітрил, при цьому обидва містять

Швидкість потоку

1,2 мл/хвил.

Гرادієнт

2 % - 88 % B впродовж 1,30 хвил., 0,15 хвил. 95 % B

Метод 2m_acidic_polar:

Колонка

Kinetex C18 50 × 2,1 мм, 2,6 мкм

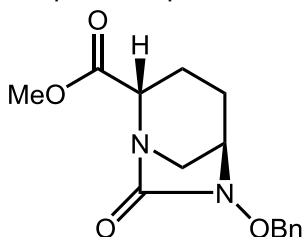
Температура колонки	50 °C
Елюенти 0,1 % ТФОК	A: H ₂ O, B: ацетонітрил, при цьому обидва містять
Швидкість потоку	1,2 мл/хвил.
Градiєнт	1 % - 30 % B впродовж 1,30 хвил., 0,15 хвил. 98 % B
Метод T3_3m_polar:	
Колонка	T3 C18 50 × 2,1 мм, 2,6 мкм
Температура колонки	50 °C
Елюенти 0.1 % ТФОК	A: H ₂ O B: ацетонітрил, при цьому обидва містять
Швидкість потоку	1,2 мл/хвил.
Градiєнт	100 % A впродовж 1,1 хвил., 30 % B впродовж 1,20 хвил., 95 % B впродовж 0,7 хвил.
Метод PXMC_2 MIN_RE. ACTION_MONITORING:	
Колонка	Acquity UPLC HSS T3 50 × 2,1 мм, 1,8 мкм
Температура колонки	60 °C
Елюенти 0.05 % ТФОК	A: H ₂ O, B: ацетонітрил, при цьому обидва містять
Швидкість потоку	1,0 мл/хвил.
Градiєнт	5 % - 98 % B впродовж 1,4 хвил.
УФ детектування	TAC (210-450 нм)
Метод PXMC_2_MIN_FI NAL_ANALYSIS:	
Колонка	Acquity UPLC HSS T3 50 × 2,1 мм, 1,8 мкм
Температура колонки	60 °C
Елюенти	A: H ₂ O (0,05 % FA+3,75 мМ AA, B: ацетонітрил (0,04 % FA)
Швидкість потоку	1,0 мл/хвил.
Градiєнт	5 % - 98 % B впродовж 1,4 хвил.
УФ детектування	TAC (210-450 нм)
Метод PXMC_2_MIN_Polar:	
Колонка	Acquity UPLC HSS T3 50 × 2,1 мм, 1,8 мкм
Температура колонки	60 °C
Елюенти	A: H ₂ O (0,05 % FA+3,75 мМ AA, B: ацетонітрил (0,04 % FA)
Швидкість потоку	1,0 мл/хвил.
Градiєнт	вигнута лінія від 1 % до 98 % B впродовж 1,4 хвил.
УФ детектування	TAC (210-450 нм)
Метод VERX_ CHIRAL	
Колонка	Chiralpak 1C KK025 250 × 4,6 мм, 5 мкм
Температура колонки	кімнатна температура
Елюенти	гептан/EtOH/діетиламін 92:8:0,05
Швидкість потоку	1,0 мл/хвил.
УФ детектування	220 нм

Абревіатури:

AA	ацетат амонію
ACN	ацетонітрил
app	уявний
ATP	аденозин 5'-трифосфат
BINAP	рацемічний 2,2'-біс(дифенілфосфіно)-1,1'-бінафтил
Boc	трет-бутил-карбоксі
br	широкий
br s	широкий синглет
BSA	бичачий сироватковий альбумін
d	дублет
dd	дублет дублетів
DCC	дициклогексилкарбодіїмід
DXE	1,2-дихлоретан
dxm	дихлорметан
DIAD	діізопропілазодикарбоксилат
DIPEA	діізопропілетиламін
DMAP	4-(N, N-диметиламіно)піридин
DME	1,4-диметоксиетан
ДМФА	N, N-диметилформамід

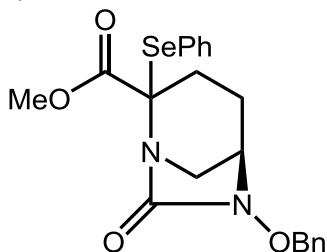
DMCO	диметилсульфоксид
EDTA	етилендіамінтетраоцтова кислота
ESI	іонізація електророзпиленням
EtOAc	етил-ацетат
FA	мурашина кислота
г	грам
год.	година(и)
HATU	1-[бис(диметиламіно)метилен]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b] піридиніум 3-оксид гексафторфосфат
HBTU	1-[бис(диметиламіно)метилен]-1H-бензотриазоліум гексафторфосфат(1-) 3-оксид
HCl	хлористоводнева кислота
HOBT	1-гідроксибензотриазол
BERX	високо ефективна рідинна хроматографія
PXMC	рідинна хроматографія та мас-спектрометрія
LDA	діізопропіламід літію
MeOH	метанол
MS	мас-спектрометрія
m	мультиплет
мг	міліграм
MIC	мінімальна інгібуюча концентрація
хвил.	хвилини
мл	мілілітр
ммоль	мілімоль
m/z	співвідношення маси до заряду
ЯМР	ядерний магнітний резонанс
o/n	впродовж ночі
P	пентет
PdCl ₂ (dppf)-CH ₂ Cl ₂	1,1'-бис(дифенілфосфіно)фероцен-паладію(II)дихлорид-дихлорметановий комплекс
м.ч.	частин на мільйон
PyBOP	бензотриазол-1-ілокситрипіролідинофосфоніум гексафторфосфат
q	квартет
рац	рацемічний
rbf	круглodonна колба
кт	кімнатна температура
Rt	час утримання
s	синглет
t	триплет
TBME	метил трет-бутиловий ефір
TOOK	трифтороцтова кислота
ТФОКА	ангідрид трифтороцтової кислоти
ТГФ	тетрагідрофуран
Tris·HCl	аміотріс(гідроксиметил)метан гідрохлорид

Одержання проміжних сполук

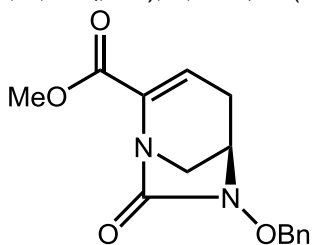


Проміжна сполука А: Метил (2S, 5R)-6-(бензилокси)-7-оксо-1,6-дізабіцикло[3.2.1]октан-2-карбоксилат. До розчину (2S, 5R)-6-(бензилокси)-7-оксо-1,6-дізабіцикло[3.2.1]октан-2-карбонової кислоти (5,0 г, 18,1 ммоль), MeOH (880 мкл, 21,7 ммоль) та DMAP (44 мг, 0,36 ммоль) у ДХМ (50 мл) при 0 °C додавали DCC (3,92 г, 19,0 ммоль). Через 2 год. при кт суміш елюювали за допомогою ДХМ та промивали водою, потім сольовим розчином. Водні шари екстрагували за допомогою ДХМ (2х) та об'єднані органічні шари сушили над Na₂SO₄, фільтрували, потім концентрували у вакуумі. Сирий залишок розтирали з діетиловим ефіром,

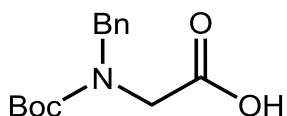
фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий фільтрат очищували шляхом силікагелевої хроматографії з одержанням заголовної сполуки (4,3 г, 82 %). PXMC R_t =0,87 хвил., m/z =291,3 (M+1), Метод 2 MIN_REACTION_MONITORING.



Проміжна сполука В: Метил (5R)-6-(бензилокси)-7-оксо-2-(фенілселаніл)-1,6-діазабіцикло[3.2.1]октан-2-карбоксилат. До розчину діізопропіламіну (29,6 мл, 210 ммоль) у ТГФ (800 мл) при -70°C додавали n-бутиллітій (1.6 М у гексанах, 108 мл, 172 ммоль) краплинним способом впродовж 10 хвилин. Після перемішування впродовж 50 хвилин при -73°C розчин метил (2S, 5R)-6-(бензилокси)-7-оксо-1,6-діазабіцикло[3.2.1]октан-2-карбоксилату (43,5 г, 150 ммоль) у ТГФ (350 мл) додавали краплинним способом впродовж 45 хвилин. Після перемішування при -78°C впродовж 1,5 години фенілселенілхлорид (57,4 г, 300 ммоль) у ТГФ (260 мл) додавали краплинами впродовж 45 хвилин. Після перемішування при -78°C впродовж 45 хвил. суміш залишали нагрітися до -10°C впродовж 60 хвилин та перемішували впродовж ще однієї години, за яку суміш охолодилася до -30°C , та гасили за допомогою HCl (2 М, 50 мл), що супроводжували додаванням метанолу (250 мл). Цю суміш залишали досягнути кт впродовж 15 хвилин, потім розводили за допомогою TBME (1 л) та промивали сумішшю сольовий розчин:вода (2:1, 2 л). Фази розділяли та органічну фазу промивали сольовим розчином (2 л). Водні шари екстрагували за допомогою TBME (2 \times 500 мл). Об'єднані органічні фази сушили над Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії, що забезпечувало одержання заголовної сполуки (23,70 г, 36 %, 3:1 суміш діастереомерів) у вигляді коричневого масла. PXMC R_t =1.12/1.16 хвил., m/z =447,3 (M+1), Метод 2 MIN_REACTION_MONITORING; ^1H ЯМР (600 МГц, CDCl_3 , головний діастереомер) δ 7,59 (d, J=7,9 Гц, 2H), 7,42-7,30 (m, 8H), 5,00 (d, J=11,5 Гц, 1H), 4,88 (d, J=11,5 Гц, 1H), 4,15 (d, J=11,7 Гц, 1H), 3,68 (s, 3H), 3,35 (s, 1H), 3,18 (d, J=11,8 Гц, 1H), 2,44 (ddd, J=17,4, 11,8, 6,6 Гц, 1H), 2,07-2,01 (m, 1H), 1,91 (dd, J=16,6, 5,8 Гц, 1H), 1,72 (td, J=12,9, 6,0 Гц, 1H).

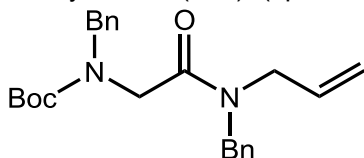


Проміжна сполука С: Метил (5R)-6-(бензилокси)-7-оксо-1,6-діазабіцикло[3.2.1]окт-2-ен-2-карбоксилат. До розчину Проміжної сполуки В у суміші ТГФ:вода (20:1, 22 мл) при 0°C додавали H_2O_2 (30 % водн, 0,8 мл, 7,83 ммоль) та AcOH (0,55 мл, 9,61 ммоль). Після перемішування впродовж 1 години при 0°C , суміш розводили за допомогою EtOAc та додавали сульфат калію (5 % водн.). Після руйнування всіх пероксидів (KJ-крохмальний тест), фази розділяли та органічний шар промивали сольовим розчином. Водні шари екстрагували за допомогою EtOAc та об'єднані органічні шари промивали за допомогою NaHCO_3 (5 % водн.), сольовим розчином, сушили над Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії з одержанням заголовної сполуки (419 мг, 81 %). PXMC: R_t =0,88 хвил., m/z =288,1 (M+1), Метод 2_MIN_FINAL_ANALYSIS. ^1H ЯМР (600 МГц, DMCO-d_6) δ 7,45-7,41 (m, 2H), 7,40-7,33 (m, 3H), 6,88-6,86 (m, 1H), 4,89 (s, 2H), 3,96 (br s, 1H), 3,67 (s, 3H), 3,35-3,28 (m, 1H), 2,82 (d, J=11,0 Гц, 1H), 2,58-2,52 (m, 1H), 2,38 (s, 1H), 2,34 (s, 1H).

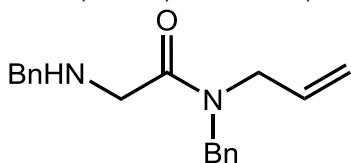


Проміжна сполука D: N-бензил-N-(трет-бутоксикарбоніл)гліцин. До суспензії N-бензилгліцину (24,3 г, 147 ммоль) у суміші ТГФ:вода (1:1, 500 мл) додавали Вос-ангідрид (33,7 г, 154 ммоль). Через 6,5 год. цю суміш розводили за допомогою TBME (250 мл) та лимонну кислоту (33 г)

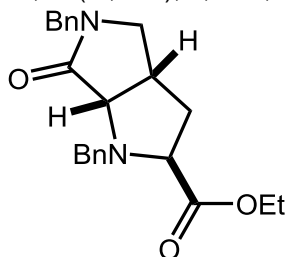
додавали до pH=4. Через 10 хвил. перемішування, фази розділяли та органічну фазу промивали сольовим розчином (250 мл). Водний шар промивали за допомогою TBME (2 × 100 мл) та об'єднані органічні фази сушили над Na₂SO₄, фільтрували, потім концентрували у вакуумі (45 °C), що забезпечувало одержання заголовної сполуки (40,70 г) у вигляді безбарвного масла, яке починало кристалізуватися при стоянні. ВЕРХ: 99,7 % за допомогою УФ, РХМС: R_t=0,94 хвил., m/z=264,3 (M-H), Метод РХМС_2_MIN_FINAL_ANALYSIS. ¹H ЯМР (600 МГц, DMSO-d₆)* δ 12,62 (br s, 1 H), 7,44-7,09 (m, 5 H), 4,41 (d, J=8,1 Гц, 2 H) 1,44-1,24 (m, 9 H) 3,89-3,67 (m, 2 H). *У вигляді суміші з O(Вос)₂ (прибл. 9 %).



Проміжна сполука E: трет-Бутил (2-(аліл(бензил)аміно)-2-оксоетил)(бензил)карбамат. У 1500-мілілітрову 4-горлу реакційну колбу з механічною мішалкою, внутрішнім термометром, холодильником та входом для подачі азоту завантажували проміжну сполуку D (31,6 г, 107 ммоль), а потім EtOAc (500 мл). Реакційну суміш охолоджували у льодяній бані (4 °C), що супроводжували додаванням N-алілбензиламіну (16,44 г, 107 ммоль) та пропілфосфонового ангідриду (ТЗР, 136 г, 214 ммоль, 50 % у етилацетаті). До цієї суміші додавали триетиламін (90 мл, 643 ммоль), краплинним способом впродовж 5 хвилин. Коричневий розчин перемішували впродовж 20 хвил. при кт, потім виливали у перемішувану суміш води та льоду (500 мл). Фази розділяли та органічну фазу промивали послідовно за допомогою HCl (0,5 н., 500 мл), насиченим NaHCO₃ (500 мл) та сольовим розчином (500 мл). Перший водний шар екстрагували за допомогою EtOAc (2 × 250 мл) та об'єднані органічні шари сушили над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі при (45 °C), що забезпечувало одержання заголовної сполуки (43,94 г) у вигляді коричневого масла. РХМС: R_t=1,31 хвил., m/z=395,5 (M+1), метод РХМС_2_MIN_FINAL_ANALYSIS. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,53-6,99 (m, 10 H), 5,94-5,55 (m, 1 H), 5,24-4,97 (m, 2 H) 4,55-4,25 (m, 4 H), 4,16-3,68 (m, 4 H), 1,42-1,28 (m, 9 H).

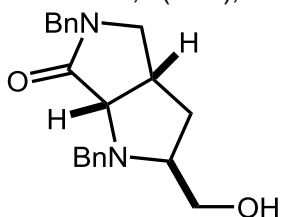


Проміжна сполука F: N-аліл-N-бензил-2-(бензиламіно)ацетамід. У 750-мілілітрову 4-горлу реакційну колбу, оснащену механічною мішалкою, внутрішнім термометром, холодильником та входом для подачі азоту, завантажували проміжну сполуку E (43,9 г, 108 ммоль) у ДХМ (400 мл). До цього розчину додавали ТФОК (83 мл, 1,079 моль). Після перемішування о/п жовтий розчин повільно виливали (швидке виділення газу) у перемішувану суміш насиченого NaHCO₃ розчину (водн., 1,5 л) та льоду (1 кг). Через 10 хвил. перемішування фази розділяли та органічну фазу промивали за допомогою ½ насиченого NaHCO₃ (водн., 0,5 л), потім сольовим розчином (0,5 л). Водний шар екстрагували за допомогою ДХМ (0,5 л) та об'єднані органічні шари сушили над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі (45 °C) з одержанням заголовної сполуки (31,30 г) у вигляді коричневого масла. РХМС: R_t=0,71 хвил., m/z=295,3 (M+1), метод РХМС_2_MIN_FINAL_ANALYSIS. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) м.ч. 7,49-7,04 (m, 10 H), 5,90-5,55 (m, 1 H), 5,19-4,92 (m, 2 H), 4,64-4,37 (m, 2 H), 3,98-3,76 (m, 2 H), 3,73-3,61 (m, 2 H), 3,44-3,32 (m, 2 H), 2,44-2,28 (m, 1 H).

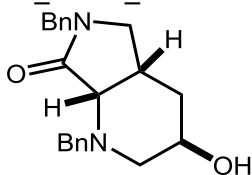


Проміжна сполука G: рац-етил-(2S*,3aS*,6aS*)-1,5-добензил-6-оксооктагідропіроло[3,4-b]пірол-2-карбоксилат. У інертизований азотом 60-літровий реактор Бюхі CR60, оснащений термостатом Хьюбера 390W FlexuALR з автоматизованим регулюванням температури, контролем дозування та входом для подачі азоту вносили розчин проміжної сполуки F (1,460 кг, 4,81 моль) у толуолі (20 л), сульфат магнію (2,32 кг, 19,24 моль) та триетиламін (0,872 л, 6,25

моль). Блідо-жовту суспензію нагрівали при зрошенні впродовж 1 години. До суміші, яку нагрівали зі зворотним холодильником, додавали етил-глюксилат (50 % у толуолі, 1,179 кг, 5,77 моль) впродовж 15 годин за допомогою дозувального насосу. Після перемішування впродовж додаткових 6 годин при зрошенні, жовту суспензію охолоджували до 15 °C (внутрішня температура), при цьому додавали воду (20 л) (екзотермічна реакція). Після перемішування впродовж 15 хвил., цю суміш переносили у 80 л-ділильну лійку та фази розділяли. Органічний шар екстрагували послідовно водою (15 л), потім сольовим розчином (15 л). Водний шар промивали за допомогою TBME (2 × 10 л). Другі TBME промивні рідини фільтрували через целіт (містили нерозчинний матеріал), елюючи за допомогою TBME. Об'єднані органічні фази частково концентрували у вакуумі (45 °C) до об'єму 6 л, сушили над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі (50 °C). Цей матеріал далі сушили впродовж ночі (50 °C, 10 мбар) з одержанням заголовної сполуки (1,970 кг) у вигляді коричневого масла, яке являло собою 5,2:1 суміш діастереомерів. PXMC: R_t=1,21 хвил. (67,1 % а) m/z=379,3 (M+1); (12,9 % а) при R_t=1,16 хвил. m/z=379,3 (M+1), метод PXMC_2_MIN_FINAL_ANALYSIS.

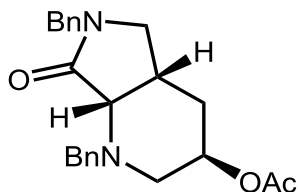


Проміжна сполука H: рац-(2S*,3aS*,6aS*)-1,5-добензил-2-(гідроксиметил)-гексагідропіроло-[3,4-b]пірол-6(1H)-он. До розчину проміжної сполуки G (1,967 кг, 5,847 моль) у ТГФ (20 л) при 0 °C у інертизованому азотом 60-літровому реакторі Бюхі CR60, оснащеному термостатом Хьюбера 390W FlexuALR з автоматизованим регулюванням температури та входом для подачі азоту додавали боргідрид літію (0,238 кг, 10,39 моль) частинами впродовж 10 хвил. (слабкий екзотермічний ефект). Через 5 днів при кт вносили додаткову кількість боргідриду літію (0,025 кг, 1,143 моль). Через додаткових 5 днів при кт додавали боргідрид літію (0,017 кг, 0,780 моль). Через ще 6 днів цю суміш охолоджували до -10 °C, при цьому HCl (2 н., 8 л) додавали краплями за допомогою дозувального насосу впродовж 2 годин, що приводило до одержання pH=3 (Увага: дуже інтенсивне виділення газу та утворення піни!). Після інтенсивного перемішування утворилася жовта суспензія, яку перемішували впродовж 30 хвил. при 0 °C. Додавали насичений NaHCO₃ (водн., 10 л) та цю суміш переносили у 80-літрову ділильну лійку та екстрагували за допомогою TBME (20 л) після додавання води (8 л), що сприяло розділенню фаз. Органічну фазу промивали сольовим розчином (2 × 10 л) та водний шар екстрагували за допомогою TBME (2 × 7 л). Об'єднані органічні шари концентрували у вакуумі (45 °C) до об'єму 8 л, потім сушили над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі (50 °C). Цей залишок розчиняли у толуолі (3 л), концентрували у вакуумі та сушили впродовж 3 годин (50 °C, 10 мбар) з одержанням заголовної сполуки (1,630 кг) у вигляді жовто-коричневого масла, яке являло собою 10,5:1 суміш діастереомерів. PXMC: R_t=0,77 хвил.* m/z=337,3 (M+1), метод PXMC_2_MIN_FINAL_ANALYSIS. *Головний діастереомер.

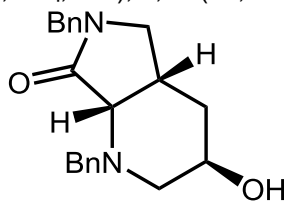


Проміжна сполука I: рац-(3R*,4aS*,7aS*)-1,6-добензил-3-гідроксиоктагідро-7H-піроло[3,4-b]піридин-7-он. До суспензії проміжної сполуки H (1,627 кг, 4,836 моль), молекулярних сит (4 Å, 2,5 кг) та ТГФ (23 л) у інертизованому азотом 30-літровому реакторі Amsi Glas з потрійним кожухом, оснащеному автоматизованим регулюванням температури, Unistat 390W, зворотним холодильником та входом для подачі азоту при -5 °C додавали ТФОКА (0,820 л, 5,81 моль), краплями впродовж 35 хвил. Після перемішування впродовж 15 хвил. при 0 °C, триетиламін (3,37 л, 24,18 моль) додавали впродовж 10 хвил., при цьому суміш нагрівали при зрошенні (внутрішня температура 68 °C) впродовж 6 днів, досягаючи рівноважного співвідношення продукту до вихідного матеріалу 9:1. Цю суміш переносили у 80-літрову ділильну лійку, що містила льодяно-холодного NaOH (1 M, 24 л) та перемішували впродовж 15 хвилин. До коричневої суспензії додавали целіт (3 кг), потім суміш перемішували впродовж 15 хвилин, потім фільтрували через фільтр з целіту, промиваючи за допомогою TBME. Фільтрат екстрагували за допомогою TBME (20 л). Органічну фазу промивали насиченим NaHCO₃ (водн., 10 л), потім сольовим розчином (1 × 15 л). Водні шари екстрагували за допомогою TBME (2 × 7

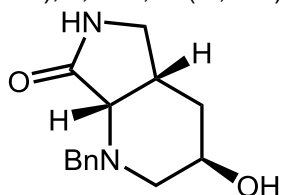
л) та об'єднані органічні шари концентрували у вакуумі (45 °C) до об'єму 8 л та сушили над Na₂SO₄ (2 кг). Цю суспензію фільтрували через силікагель (1 кг, 40-63 мкм), промиваючи за допомогою EtOAc (4 × 2 л). Елюент концентрували у вакуумі (45 °C) та сушили впродовж 3 годин (50 °C, 15 мбар) з одержанням заголовної сполуки (1,366 кг) у вигляді темно-коричневого масла. PXMC: R_t=0,84 хвил., m/z=337,3 (M+1), метод PXMC_2_MIN_FINAL_ANALYSIS. ¹H ЯМР (600 МГц, DMSO-d₆) δ 7,40-7,15 (m, 10 H), 4,69-4,57 (m, 1 H), 4,65-4,56 (m, 1 H), 4,43 (d, J=13,8 Гц, 1 H), 4,29-4,21 (m, 1 H), 3,62-3,49 (m, 1 H), 3,46-3,39 (m, 1 H), 3,18 (d, J=8,3 Гц, 2 H), 2,86 (d, J=5,7 Гц, 1H), 2,70 (dd, J=10,7, 2,7 Гц, 1 H), 2,66-2,56 (m, 1 H), 1,83-1,67 (m, 2 H), 1,39-1,29 (m, 1 H).



Проміжна сполука J: (3R, 4aS, 7aS)-1,6-добензил-7-оксооктагидро-1H-піроло[3,4-b]-піридин-3-іл ацетат. Суспензію проміжної сполуки I (1,364 кг, 3,04 моль), вініл-ацетату (4,20 л, 45,6 моль), ліпази QLM (*Alcaligenes* sp форма Meito Sangyo, активність: 101400 Од./г, 25 г, 3,04 моль) та TBME (21 л) у інертизованому азотом 30-літровому реакторі з потрійним кожухом з автоматизованим регулюванням температури, Unistat 390W, холодильником та входом для подачі азоту перемішували при 30 °C (внутрішня температура) впродовж 6 днів. Цю суміш охолоджували до 20 °C та фільтрували через hyflo (500 г). Фільтрат концентрували у вакуумі (35 °C) до об'єму 3 л, при цьому додавали толуол (1 л), потім додатково концентрували у вакуумі (при 35 °C, потім при 50 °C). Сирий продукт розчиняли у суміші TBME:гептан (2:1, 3 л) та очищували декількома частинами шляхом силікагелевої хроматографії (гептан-EtOAc-метанол), що забезпечувало одержання заголовної сполуки (626 г) у вигляді коричневого масла. PXMC: R_t=1,16 хвил., m/z=379,3 (M+1), Метод PXMC_2_MIN_FINAL_ANALYSIS. ВЕРХ: R_t=33,45 хвил., 98,2 % е.н. (мінорний енантіомер: R_t=23,92 хвил.) метод ВЕРХ_ CHIRAL. ¹H ЯМР (600 МГц, DMSO-d₆) δ м.ч. 7,41-7,22 (m, 10 H), 4,74-4,65 (m, 1 H) 4,56-4,51 (m, 1 H), 4,36-4,26 (m, 2 H), 3,75 (d, J=14,3 Гц, 1 H) 3,30-3,21 (m, 2 H) 3,00 (dd, J=9,5, 5,9 Гц, 1 H), 2,75-2,68 (m, 1 H), 2,62 (sxt, J=6,2 Гц, 1 H), 2,23 (dd, J=11,6, 7,2 Гц, 1 H), 1,97 (s, 3 H), 1,66 (t, J=6,05 Гц, 2 H).

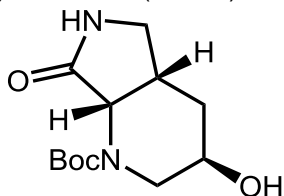


Проміжна сполука K: (3R, 4aS, 7aS)-1,6-добензил-3-гидроксиоктагидро-7H-піроло[3,4-b]-піридин-7-он. Суміш проміжної сполуки J (616 г, 1221 ммоль), ТГФ (4 л) та NaOH (2 н., 3,97 л, 7,94 моль) у 20-літровій кругло-донній колбі роторного випарнику Бюхі енергійно перемішували впродовж 18 год. при 25 °C та впродовж 6 год. при 40 °C, за цей час суміш охолодилася до 25 °C, що супроводжували додаванням MeOH (2 л) та суміш перемішували о/п. Цю суміш екстрагували за допомогою TBME (6 л) та органічну фазу промивали сольовим розчином (4 л). Водний шар екстрагували за допомогою TBME (3 × 3 л) та об'єднані органічні фази концентрували у вакуумі (45 °C) до об'єму 5 л, потім сушили над безводним сульфатом натрію (1 кг), фільтрували та концентрували у вакуумі (45 °C). Залишок розчиняли у толуолі (3 л) та знову концентрували, потім сушили впродовж 2 годин (60 °C, 20 мбар), що забезпечувало одержання заголовної сполуки (555 г) у вигляді коричневого масла. PXMC: R_t=0,84 хвил., m/z=337,3 (M+1), Метод PXMC_2_MIN_FINAL_ANALYSIS. ¹H ЯМР (600 МГц, DMSO-d₆) δ 7,58-7,04 (m, 10 H), 4,66-4,5 (m, 2 H), 4,43 (d, J=13,9 Гц, 1 H), 4,25 (d, J=15,2 Гц, 1 H), 3,54 (tq, J=9,3, 4,5 Гц, 1 H), 3,47-3,39 (m, 1 H), 3,18 (d, J=8,3 Гц, 2 H), 2,85 (d, J=5,9 Гц, 1 H), 2,70 (dd, J=11,0, 2,8 Гц, 1 H), 2,64-2,57 (m, 1 H), 1,78-1,67 (m, 2 H), 1,27-1,39 (m, 1 H).

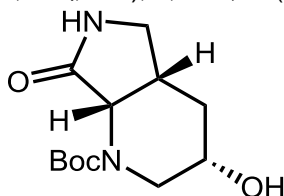


Проміжна сполука L: (3R, 4aS, 7aS)-1-бензил-3-гидроксиоктагидро-7H-піроло[3,4-b]-піридин-7-

он. 30-літровий реактор Бюхі CR30, оснащений термостатом Хьюбера 1015 Flexu ALR з автоматизованим регулюванням температури, входом для подачі аргону та амонію, інертизували аргонном, попередньо охолодженим до -80°C , заповнювали рідким амонієм (безводний, 10,0 кг, 587 моль), з виходом, прикріпленим до газоочисного пристрою, наповненого сірчаною кислотою (30 %, 100 л), вводили розчин проміжної сполуки К (543 г, 1,614 моль) у ТГФ (1,5 л), а потім етанол (безводний, 236 мл, 4,04 моль). До отриманого розчину додавали літій (гранулярний, 44,8 г, 6,46 моль), частинами впродовж 15 хвил. (температура підвищувалася від -72°C до -63°C). До сірої суміші, через 1 годину, додавали літій (22,4 г, 3,23 моль) та етанол (безводний, 94 мл, 1,616 моль), при цьому продовжуючи перемішування при -60°C . Через 1 год. додавали додатковий літій (11,2 г, 1,615 моль) та етанол (безводний, 47 мл, 0,808 моль). Через 45 хвил. додавали ще літій (11,2 г, 1,615 моль). Через 15 год. додавали етанол (безводний, 94 мл, 1,616 моль) з одержанням насичено-синьої суміші. Перемішування продовжували поки не залишилося $<5\%$ вихідного матеріалу та реакцію гасили додаванням хлориду амонію (2,0 кг, 37,4 моль) частинами впродовж 10 хвилин. Реакційну суміш перемішували впродовж 17 год. при -28°C та $\sim 2^{\circ}\text{C}$, що приводило до повного випарювання амонію. До цієї суміші додавали воду (15 л) та TBME (8 л), що супроводжували додаванням HCl (32 %) до одержання $\text{pH}=9-10$. Фази розділяли та органічний шар промивали сольовим розчином (5 л). Водний шар екстрагували за допомогою ДХМ (3×2 л) та об'єднані органічні шари концентрували у вакуумі при 45°C до об'єму 3 л, потім сушили над Na_2SO_4 (1 кг), фільтрували та концентрували у вакуумі (45°C , потім 2 год. при 65°C , 20 мбар), що забезпечувало одержання заголовної сполуки (373 г) у вигляді коричневого масла. PXMC: $R_f=0,75$, $m/z=247,2$ (M+H), Метод PXMC_2_MIN_POLAR. ^1H ЯМР (600 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,78 (s, 1 H), 7,34-7,24 (m, 4 H), 7,27-7,16 (m, 1 H), 4,65-4,60 (m, 1 H), 4,32 (d, $J=13,9$ Гц, 1 H), 3,64-3,54 (m, 1 H), 3,44 (d, $J=13,9$ Гц, 1 H), 3,13 (d, $J=8,1$ Гц, 2 H), 2,69 (dd, $J=10,82, 2,75$ Гц, 1 H), 2,66-2,62 (m, 1 H), 2,60-2,54 (m, 1 H), 1,80-1,69 (m, 2 H), 1,41-1,30 (m, 1 H).

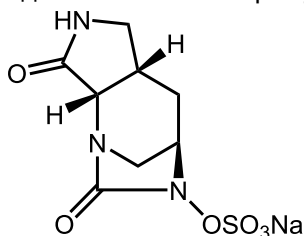


Проміжна сполука М: трет-бутил-(3R, 4aS, 7aS)-3-гідрокси-7-оксооктагідро-1Н-піроло-[3,4-b]піридин-1-карбоксилат. До розчину проміжної сполуки L (372,0 г, 1,51 моль) та Вос-ангідрид (346 г, 1,59 моль) у ТГФ (4,0 л) додавали Pd-C 10 % (15 г). Цю суміш збовтували за допомогою занурюваного пристрою для збовтування при $22-25^{\circ}\text{C}$ та 0,1 бар H_2 тиску впродовж 89 годин. Після абсорбції 57 % водню додавали ще одну частину Pd-C 10 % (15 г). Цю суміш фільтрували через целіт, промивали за допомогою ТГФ та концентрували у вакуумі з одержанням сирого продукту (545 г) у вигляді блідо-коричневої твердої речовини. Залишок суспендували у EtOAc (1 л) та перемішували впродовж 1 години при 75°C . До суспензії додавали гептан (1,5 л), повільно при 75°C . Після перемішування впродовж 2 годин при кт, продукт збирали фільтруванням, тверду речовину промивали гептаном, потім сушили у вакуумі (45°C), що забезпечувало одержання заголовної сполуки (278,5 г) у вигляді білих кристалів. PXMC: $R_f=0,86$ хвил., $m/z=257,3$ (M+1), Метод PXMC_2_MIN_POLAR. ^1H ЯМР (600 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,83-7,65 (m, 1 H), 4,80-4,49 (m, 2 H), 3,93-3,67 (m, 2 H), 3,43-3,37 (m, 1 H), 2,72 (br d, $J=9,5$ Гц, 1 H), 2,60 (br d, $J=12,5$ Гц, 1 H), 2,48-2,39 (m, 1 H), 1,82-1,70 (m, 1 H), 1,40 (br d, $J=6,8$ Гц, 9 H) 1,36-1,27 (m, 1 H).

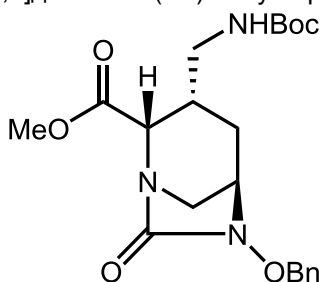


Проміжна сполука N: трет-бутил (3S, 4aS, 7aS)-3-гідрокси-7-оксооктагідро-1Н-піроло-[3,4-b]піридин-1-карбоксилат. До розчину проміжної сполуки М (270 г, 948 ммоль) у ТГФ (13 л), яка знаходилася у інертизованому азотом 20-літровому реакторі (Amsi Glas) з потрійним кожухом з автоматизованим регулюванням температури, Unistat 390W, холодильником та входом для подачі азоту при -5°C (внутрішня температура) додавали 4-нітробензойну кислоту (323 г, 1,90 моль) та трифенілфосфін (524 г, 1,90 моль). До отриманого розчину додавали розчин DIAD (359 мл, 1,85 моль) у ТГФ (1,3 л), краплинним способом впродовж 30 хвил. при цьому підтримуючи внутрішню температуру при $-4 - -10^{\circ}\text{C}$. Цю суміш залишали нагрітися до кімнатної температури

та перемішували о/п, потім концентрували у вакуумі (45 °С), що забезпечувало одержання сирого матеріалу (1,64 кг, вологий) у вигляді коричневого масла. До розчину масляного залишку у MeOH (15 л) додавали K₂CO₃ (393 г, 2,844 моль). Через 1 годину перемішування суспензію концентрували у вакуумі (40 °С), забезпечуючи одержання помаранчевої твердої речовини, до якої додавали ДХМ (6 л). Через 30 хвил., цю суспензію фільтрували, промивали за допомогою ДХМ та фільтрат концентрували у вакуумі (45 °С). Цей залишок суспендували у ДХМ:MeOH (97:3, 4 л) та перемішували впродовж 30 хвилин при кімнатній температурі. Цю суспензію фільтрували, промивали за допомогою ДХМ та фільтрат концентрували у вакуумі (45 °С) до об'єму 3 л та очищували двома частинами шляхом силікагелевої хроматографії, забезпечуючи одержання продукту (189 г) у вигляді твердої речовини. До цього матеріалу, розчиненого у суміші ДХМ:MeOH (95:5, 5 л) при 45 °С повільно додавали гептан (5 л). Цей розчин частково концентрували (45 °С), видаляючи деяку кількість ДХМ, що приводило до кристалізації продукту через 15 хвил. Через 1 годину при кт, тверду речовину збирали шляхом фільтрування, промивали гептаном та сушили у вакуумі (45 °С) до одержання сталої маси, що забезпечувало одержання заголовної сполуки (167,7 г) у вигляді кристалів. РХМС: R_t=0,95 хвил., m/z=257,3 (M+1), Метод РХМС_2_MIN_POLAR. ¹H ЯМР (600 МГц, DMSO-d₆)* δ 7,80 (d, J=20,2 Гц, 1H), 4,97 (t, J=4,8 Гц, 1H), 4,57 (dd, J=92,2, 7,0 Гц, 1H), 3,89 (ddd, J=18,8, 9,3, 6,5 Гц, 1H), 3,33-3,23 (m, 1H), 2,75 (ddd, J=9,7, 4,6, 2,0 Гц, 1H), 2,43 (ddt, J=16,9, 11,8, 6,1 Гц, 1H), 2,08 (ddd, J=86,6, 12,5, 10,7 Гц, 1H), 1,94 (dd, J=12,2, 5,5 Гц, 1H), 1,39 (d, J=22,6 Гц, 9H), 1,04 (dq, J=15,2, 12,0 Гц, 1H).
*Повідомляли як спостережувані ротамери.

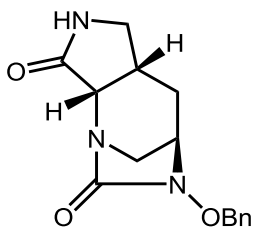


Приклад 1. Натрію (4R, 5aS, 8aS)-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат.

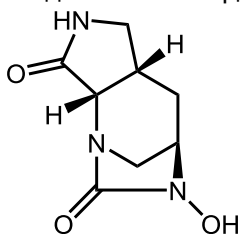


Стадія 1: Метил (2S, 3S, 5R)-6-(бензилокси)-3-(((трет-бутоксикарбоніл)аміно)-метил)-7-оксо-1,6-діазабіцикло[3.2.1]октан-2-карбоксилат. Проміжну сполуку С (0,82 г, 2,84 ммоль), Boc-Gly-OH (1,00 г, 5,69 ммоль) та Ir[df(CF₃)ppy₂(dtbpy)]PF₆ (32 мг, 0,028 ммоль) розчиняли у ДМФА (20 мл). До цього розчину додавали тонко подрібнений двоосновний фосфат калію (0,59 г, 3,41 ммоль) та отриману суспензію опромінювали у атмосфері аргону (балон) у 500-мілілітровій крапельній лійці (закритій знизу круглодонною колбою та згори мембраною) впродовж 7 днів за допомогою 8Вт УФА флуоресцентної лампи. Колбу поміщали горизонтально згори лампи (охолоджуваної повітрям) для забезпечення максимального опромінення. Через 4 дні додавали Ir[df(CF₃)ppy₂(dtbpy)]PF₆ (32 мг, 0,028 ммоль).

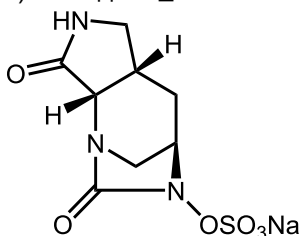
До цієї суміші додавали воду (100 мл), потім насичений NaHCO₃ (водн., 100 мл) та її екстрагували за допомогою TBME (4 × 80 мл). Об'єднані органічні фази промивали послідовно насиченим NaHCO₃ (водн., 50 мл), водою (50 мл), потім сольовим розчином (50 мл). Органічний шар сушили над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (EtOAc-гептан, 15-100 %) з одержанням заголовної сполуки (108 мг, 9 %) у вигляді масла. РХМС: R_t=1,04 хвил., Метод 2m_acidic.



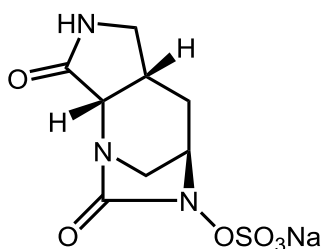
Стадія 2: (4R, 5aS, 8aS)-3-(бензилокси)гексагідро-2H-1,4-метано-піроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(3H)-діон. До розчину метил (2S, 3S, 5R)-6-(бензилокси)-3-(((трет-бутоксикарбоніл)аміно)-метил)-7-оксо-1,6-діазабіцкло[3.2.1]октан-2-карбоксилату (108 мг, 0,26 ммоль) у ДХМ (3 мл) при кт додавали ТФОК (1,0 мл, 13 ммоль), краплинним способом. Суміш залишали перемішуватися при кт впродовж 3 год., після чого її концентрували у вакуумі. Сирий залишок розчиняли у ДХМ (3 мл), охолоджували до 0 °С, та додавали триетиламін (0,31 мл, 2,3 ммоль). Через 1 годину додавали ще триетиламіні (0,11 мл, 0,75 ммоль) та ДХМ (5 мл). Льодяну баню виділяли та реакційну суміш перемішували при кт впродовж ночі (о/н), після чого її промивали лимонною кислотою (10 мл, прибіл. 20 % водн.). Водну фазу екстрагували за допомогою ДХМ (3 × 8 мл) та об'єднані органічні фази промивали водою (5 мл), сольовим розчином (2 × 10 мл), сушили над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (ДХМ-МеОН, 2-7 %) з одержанням заголовної сполуки (47 мг, 61 %) у вигляді бежевої твердої речовини. РХМС: R_t=0,61 хвил., m/z=288 (M+1), Метод 2m_acidic.



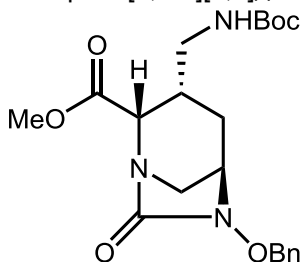
Стадія 3: (4R, 5aS, 8aS)-3-гідроксигексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(3H)-діон. Суспензію (4R, 5aS, 8aS)-3-(бензилокси)гексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(3H)-діону (80 мг, 0,278 ммоль) та Pd-C (10 % Дегусса типу 101, 50 % води, 34 мг) у МеОН (1,8 мл) відкачували та знову заповнювали воднем (H₂) (3х). Через 2,5 год. суміш фільтрували через фільтр з целіту, промивали за допомогою МеОН та концентрували у вакуумі, що забезпечувало одержання заголовної сполуки (40 мг, 74 %). РХМС: R_t=0,13 хвил., m/z=198,1 (M+1) Метод 2m_acidic.



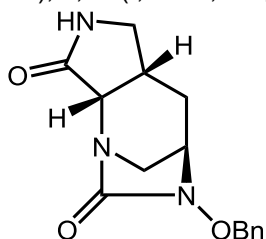
Стадія 4: Натрію (4R, 5aS, 8aS)-2,8-діоксигексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл-сульфат. До суспензії сирого (4R, 5aS, 8aS)-3-гідроксигексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(3H)-діону (40,7 мг, 0,206 ммоль) у піридині (2 мл) при 0 °С додавали SO₃•Py комплекс (335 мг, 2,064 ммоль). Через 19 год. енергійного перемішування суспензію фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок розчиняли у суміші ТГФ:вода (1:1, 6 мл) та додавали Амберліт 200 Na-обмінну смолу (1,5 г). Цю суспензію перемішували впродовж 2 год., після чого її фільтрували, частково концентрували у вакуумі, заморожували та ліофілізували. Отриману тверду речовину піддавали силікагелевій хроматографії (вода-ацетонітрил, 2-5 %), що забезпечувало одержання заголовної сполуки (12,3 мг, 16 %, за 2-стадії) у вигляді аморфної твердої речовини. РХМС: R_t=0,25 хвил., m/z=278,0 (M+1) Метод T3_3m_polar; ¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 4,24-4,18 (m, 2H), 3,52 (dd, J=10,7, 6,2 Гц, 1H), 3,33 (d, J=12,3 Гц, 1H), 3,10 (d, J=10,7 Гц, 1H), 2,95 (d, J=12,3 Гц, 1H), 2,81 (p, J=8,5 Гц, 1H), 2,54-2,46 (m, 1H), 1,65 (dd, J=14,7, 9,2 Гц, 1H).



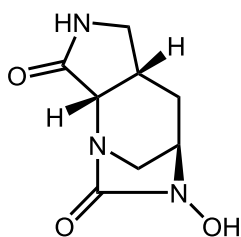
Приклад 1. Альтернативна процедура. Натрію (4R, 5aS, 8aS)-2,8-діоксгексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат.



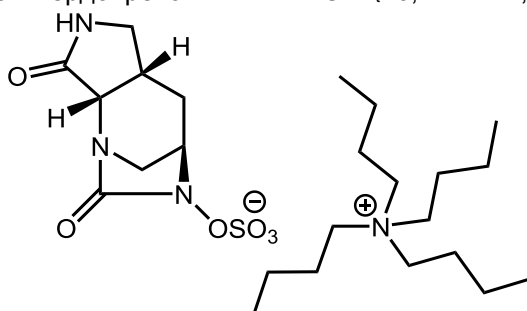
5 Стадія 1: (2S, 3S, 5R)-метил 6-(бензилокси)-3-(((трет-бутоксикарбоніл)аміно)метил)-7-оксо-1,6-діазабіцикло[3.2.1]октан-2-карбоксилат. Перемішувану суміш проміжної сполуки С (3 г, 10,41 ммоль), 2-((трет-бутоксикарбоніл)аміно)оцтової кислоти (2,55 г, 14,57 ммоль), $\text{Ir}[\text{df}(\text{CF}_3)\text{ppy}]_2(\text{dtbpy})\text{PF}_6$ (0,117 г, 0,104 ммоль), та двоосновного фосфату калію (2,72 г, 15,61 ммоль) у ДМФА (30,6 мл) дегазували шляхом барботування N_2 впродовж 15 хвил. та
10 опромінювали за допомогою Kessil H150-Blue LED (охолодження вентилятором), у атмосфері N_2 впродовж 92 год. Додавали 2-((трет-бутоксикарбоніл)аміно)оцтову кислоту (2,55 г, 14,57 ммоль), двоосновний фосфат калію (2,72 г, 15,61 ммоль) та $\text{Ir}[\text{df}(\text{CF}_3)\text{ppy}]_2(\text{dtbpy})\text{PF}_6$ (0,117 г, 0,104 ммоль) та цю суміш опромінювали за допомогою Kessil H150-Blue LED (охолодження вентилятором), у атмосфері N_2 впродовж ще 20 годин. Цю суміш розводили за допомогою насиченого NaHCO_3 (водн.) та екстрагували за допомогою EtOAc (3х). Об'єднані органічні шари промивали водою, сольовим розчином, сушили над Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували при зниженому тиску. Сирий матеріал очищували шляхом силікагелевої хроматографії (EtOAc-гептани, 0-100 %) з одержанням заголовної сполуки (352 мг, 8 %) у вигляді жовтої піни. РХ/МС: $R_t=0,87$ хвил.; $m/z=420,2$ (M+1) Метод 2m_acidic; ^1H ЯМР (500МГц, DMCO-d_6) δ 7,46-7,42 (m, 2H), 7,42-7,34 (m, 3H), 6,84 (br s, 1H), 4,93 (d, J=4,3 Гц, 2H), 3,88 (d, J=6,7 Гц, 1H), 3,76 (br s, 1H), 3,66-3,65 (m, 3H), 3,21 (d, J=12,0 Гц, 1H), 3,12-3,03 (m, 1H), 2,86-2,78 (m, 2H), 2,14 (br s, 1H), 2,00-1,93 (m, 1H), 1,51 (t, J=12,3 Гц, 1H), 1,34 (s, 9H).



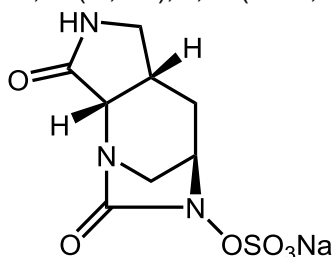
25 Стадія 2: (4R, 5aS, 8aS)-3-(бензилокси)гексагідро-2H-1,4-метано-піроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(8aH)-діон. До розчину (2S, 3S, 5R)-метил 6-(бензилокси)-3-(((трет-бутоксикарбоніл)аміно)метил)-7-оксо-1,6-діазабіцикло[3.2.1]октан-2-карбоксилату (352 мг, 0,839 ммоль) у ДХМ (4,19 мл) краплинним способом додавали ТФОК (1,61 мл, 20,98 ммоль). Через 90 хвил. суміш концентрували у вакуумі, розчиняли у ДХМ та знову концентрували (3х). До залишку, розчиненого у ДХМ (5 мл) при 0 °C, додавали TEA (1,17 мл, 8,39 ммоль), після чого охолоджуючу баню видаляли. Через 20 год. при кт, цю суміш розводили за допомогою насиченого NaHCO_3 (водн.) та екстрагували за допомогою EtOAc (3х). Об'єднані органічні шари промивали водою, сольовим розчином, сушили над Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий матеріал очищували шляхом силікагелевої хроматографії (MeOH-ДХМ, 0-20 %), що забезпечувало одержання заголовної сполуки (158 мг, 66 %, за 2 стадії) у вигляді прозорої
35 плівки. РХ/МС: $R_t=0,65$ хвил.; $m/z=288,0$ (M+1) Метод 2m_acidic; ^1H ЯМР (400МГц, DMCO-d_6) δ 7,99 (s, 1H), 7,48-7,33 (m, 5H), 4,99-4,88 (m, 2H), 3,81 (d, J=7,8 Гц, 1H), 3,59 (br s, 1H), 3,32-3,22 (m, 1H), 2,89 (br d, J=11,9 Гц, 1H), 2,75 (d, J=9,8 Гц, 1H), 2,63 (d, J=11,9 Гц, 1H), 2,26-2,17 (m, 1H), 1,38 (ddd, J=14,3, 9,2, 1,9 Гц, 1H).



Стадія 3: (4R, 5aS, 8aS)-3-гідроксигексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(8aH)-діон. Суспензію (4R, 5aS, 8aS)-3-(бензилокси)гексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(8aH)-діону (158 мг, 0,550 ммоль) та Pd-C (10 % Дегусса типу 101, 50 % води, 117 мг, 0,055 ммоль) у суміші MeOH:ДХМ (3:1, 3,67 мл) відкачували та знову заповнювали за допомогою H₂. Через 2 год. цю суміш фільтрували через целіт та концентрували у вакуумі (температура бані < 30 °C) з одержанням заголовної сполуки (102 мг, 94 %) у вигляді брудно-білої твердої речовини. РХ/МС: R_t=0,12 хвил.; m/z=198,0 (M+1) Метод 2m_acidic.



Стадія 4: Тетрабутиламонію (4R, 5aS, 8aS)-2,8-діоксигексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат. До розчину сирого (4R, 5aS, 8aS)-3-гідроксигексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(8aH)-діону (102 мг, 0,517 ммоль) у піридині (5,17 мл) додавали SO₃·Py (412 мг, 2,59 ммоль). Через 19 год. енергійного перемішування, цю суміш фільтрували та концентрували у вакуумі (температура бані < 30 °C). Отриманий матеріал розчиняли у NaH₂PO₄ (1 M, 10 мл), після чого додавали гідросульфат тетрабутиламонію (263 мг, 0,776 ммоль). Через 30 хвилин перемішування суміш екстрагували за допомогою IPA:CHCl₃ (1:4, 3x). Об'єднані органічні шари сушили над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі (температура бані < 30 °C). Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (MeOH-ДХМ, 0-30 %) з одержанням заголовної сполуки (180 мг, 67 %) у вигляді білої піни. РХ/МС: R_t=0,13 хвил.; m/z=278 (M+1) Метод 2m_acidic; ¹H ЯМР (500МГц, DMSO-d₆) δ 7,97 (s, 1H), 3,98 (br s, 1H), 3,81 (d, J=7,8 Гц, 1H), 3,28 (dd, J=6,1, 9,9 Гц, 1H), 3,19-3,13 (m, 8H), 2,98 (br d, J=12,1 Гц, 1H), 2,78 (d, J=9,9 Гц, 1H), 2,65 (d, J=12,1 Гц, 1H), 2,49-2,44 (m, 1H), 2,28-2,19 (m, 1H), 1,63-1,51 (m, 8H), 1,40 (br dd, J=9,3, 12,7 Гц, 1H), 1,31 (sxt, J=7,4 Гц, 8H), 0,93 (t, J=7,3 Гц, 12H).



Стадія 5: Натрію (4R, 5aS, 8aS)-2,8-діоксигексагідро-2H-1,4-метано-піроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат. DOWEX 50Wx8 водневу форму 200-400 меш кондиціювали шляхом перемішування з NaOH (2 н.) впродовж 3 год. Цю іонообмінну смолу завантажували у колонку та промивали водою до pH ~6. Потім її промивали сумішшю 1:1 вода/ацетон. Тетрабутиламонію (4R, 5aS, 8aS)-2,8-діоксигексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат (180 мг, 0,347 ммоль) розчиняли у суміші 1:1 ацетон/вода та елюювали через цю смолу сумішшю 1:1 ацетон/вода. Цей зразок частково концентрували у вакуумі (температура бані < 30 °C), та ліофілізували з одержанням заголовної сполуки (75 мг, 68 %) у вигляді білої твердої речовини. РХ/МС: R_t=0,25 хвил.; m/z=278,0 (M+1) Метод T3_3m_polar; ¹H ЯМР (500МГц, D₂O) δ 4,24-4,18 (m, 2H), 3,51 (dd, J=10,7, 6,2 Гц, 1H), 3,33 (br d, J=12,3 Гц, 1H), 3,10 (d, J=10,7 Гц, 1H), 2,95 (d, J=12,3 Гц, 1H), 2,81 (p, J=8,1 Гц, 1H), 2,54-2,46 (m, 1H), 1,65 (dd, J=14,7, 9,2 Гц, 1H).

Альтернативна процедура для Стадії 5: (4R, 5aS, 8aS)-2,8-діоксигексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-ілу гідросульфат. До розчину тетрабутиламонію (4R, 5aS,

8aS)-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфату (6,9 г, 13,30 ммоль) у ізобутанолі (20,8 мл) та воді (1,35 мл) при 40 °С додавали розчин 2-етилгексаноату натрію (4,56 г, 26,6 ммоль) у ізобутанолі (20,8 мл) та воді (1,35 мл) за допомогою шприцевого насоса при швидкості 8 мл/год. Цю суміш перемішували впродовж 1 години при 40 °С, потім охолоджували до кімнатної температури та перемішували впродовж ночі, після чого цю суміш фільтрували за допомогою лійки Бюхнера, використовуючи фільтрувальний папір якості Ватмат. Осад на фільтрі промивали ізобутанолом (3х) та потім льодяно-холодним ацетоном (3х). Цю лійку вакуумували з N₂ потоком над осадом на фільтрі впродовж 3 год., що супроводжували ліофілізацією впродовж 3 днів, що забезпечувало одержання заголовної сполуки (3,05 г, 73 %) у вигляді кристалічної білої речовини. РХ/МС: R_t=0,25 хвил.; m/z=278,0 (M+1) Метод ТЗ_3m_polar.

¹H ЯМР (500МГц, D₂O) δ = 4,20-4,12 (m, 2H), 3,48 (dd, J=6,2, 10,7 Гц, 1H), 3,33-3,25 (m, 1H), 3,05 (d, J=10,7 Гц, 1H), 2,90 (d, J=12,2 Гц, 1H), 2,82-2,71 (m, 1H), 2,46 (tdd, J=2,8, 8,7, 14,7 Гц, 1H), 1,66-1,56 (m, 1H).

Спектр рентгенівської порошкової дифрактометрії для натрієвої солі показаний на Фігурі 1.

Прилад: рентгенівський дифрактометр (Bruker, модель D8)

Джерело - Cu k α

Ширина кроку 0,02°

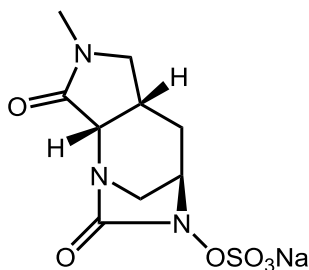
Напруга 40 кВт

Струм 40 мА

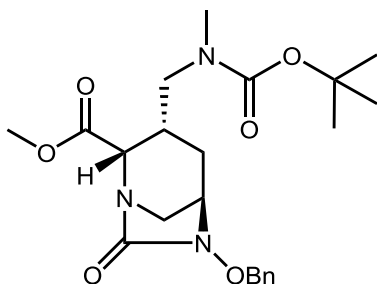
Час на стадію 120 секунд

Інтервал сканування 3-39°

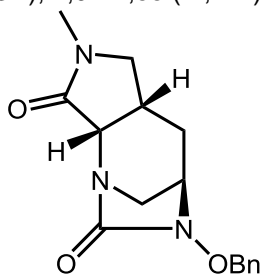
Пік	2тета
1	8,31 (± 0,2)
2	11,66 (± 0,2)
3	14,45 (± 0,2)
4	16,63 (± 0,2)
5	17,64 (± 0,2)
6	18,12 (± 0,2)
7	18,64 (± 0,2)
8	19,51 (± 0,2)
9	21,68 (± 0,2)
10	23,54 (± 0,2)
11	24,32 (± 0,2)
12	25,06 (± 0,2)
13	27,37 (± 0,2)
14	27,86 (± 0,2)
15	28,72 (± 0,2)
16	31,33 (± 0,2)
17	32,60 (± 0,2)
18	33,58 (±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



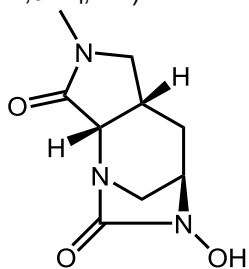
Приклад 2. Натрію (4R, 5aS, 8aS)-7-метил-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метано-піроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат.



Стадія 1: (2S, 3S, 5R)-метил 6-(бензилокси)-3-(((трет-бутоксикарбоніл)-(метил)аміно)метил)-7-оксо-1,6-діазабіцикло[3.2.1]октан-2-карбоксилат. Перемішувану суміш проміжної сполуки С (3 г, 10,41 ммоль), 2-(((трет-бутоксикарбоніл)-(метил)аміно)оцтової кислоти (2,56 г, 13,53 ммоль), Ir[*df*(CF₃)ppy]₂(dtbpy)PF₆ (0,117 г, 0,104 ммоль) та двоосновного фосфату калію (2,175 г, 12,49 ммоль) у ДМФА (30 мл) дегазували шляхом барботування N₂ через суспензію впродовж 15 хвил. та потім залишили під потоком N₂ та опромінювали за допомогою Kessil H150-Blue LED (охолодження вентилятором) впродовж 48 год. Цю реакційну суміш розводили насиченим NaHCO₃ та екстрагували за допомогою EtOAc (3х). Об'єднані органічні шари промивали водою, сольовим розчином, сушили над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий матеріал очищували шляхом силікагелевої хроматографії (EtOAc-гептани, 0-100 %) з одержанням помаранчевої піни (233 мг). Цей матеріал знову очищували шляхом силікагелевої хроматографії (EtOAc-гептани, 0-70 %), що забезпечувало одержання заголовної сполуки (140 мг, 3 %) у вигляді жовтої твердої речовини. PX/MC: R_t=0,92 хвил.; m/z=434,1 (M+1) Метод 2m_acidic; ¹H ЯМР (500МГц, ДМСО-d₆) δ 7,46-7,42 (m, 2H), 7,41-7,33 (m, 3H), 4,98-4,91 (m, 2H), 3,88-3,81 (m, 1H), 3,78 (br s, 1H), 3,68 (br s, 3H), 3,26-3,03 (m, 2H), 2,84 (br d, J=11,6 Гц, 1H), 2,67 (s, 3H), 1,97-1,88 (m, 1H), 1,62 (br t, J=12,6 Гц, 1H), 1,34 (br s, 9H).

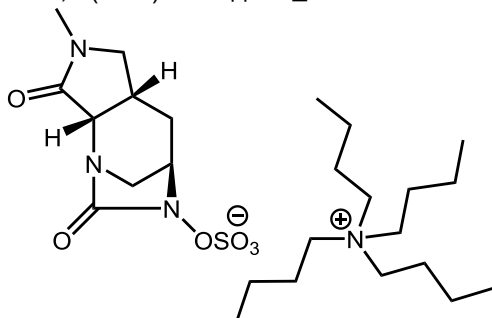


Стадія 2: (2S, 3S, 5R)-метил 6-(бензилокси)-3-((метиламіно)метил)-7-оксо-1,6-діазабіцикло[3.2.1]октан-2-карбоксилат. До перемішаного розчину (2S, 3S, 5R)-метил 6-(бензилокси)-3-(((трет-бутоксикарбоніл)-(метил)аміно)метил)-7-оксо-1,6-діазабіцикло[3.2.1]октан-2-карбоксилату (140 мг, 0,323 ммоль) у ДХМ (1,6 мл), ТФОК (0,622 мл, 8,07 ммоль) додавали краплями при кт у атмосфері N₂. Цю реакційну суміш перемішували при кт впродовж 90 хвилин та потім концентрували та спів-випарювали з ДХМ (3х). Цей залишок розчиняли у ДХМ (2 мл) та охолоджували до 0 °C. Додавали TEA (0,450 мл, 3,23 ммоль), охолоджуючу баню прибирали та реакційну суміш перемішували при кт впродовж 90 хвилин. Цю реакційну суміш розводили насиченим NaHCO₃ та екстрагували за допомогою EtOAc (3х). Об'єднані органічні шари промивали водою, сольовим розчином, сушили над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий матеріал очищували шляхом силікагелевої хроматографії (MeOH-ДХМ, 0-20 %) з одержанням заголовної сполуки (86 мг, 88 %) у вигляді прозорої плівки. PX/MC: R_t=0,46 хвил.; m/z=301,9 (M+1) Метод 2m_acidic; ¹H ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆) δ 7,50-7,32 (m, 5H), 5,03-4,86 (m, 2H), 3,86 (d, J=7,9 Гц, 1H), 3,60 (br s, 1H), 3,39-3,34 (m, 1H), 2,93-2,83 (m, 2H), 2,76 (s, 3H), 2,57 (d, J=11,9 Гц, 1H), 2,49-2,42 (m, 1H), 2,32-2,18 (m, 1H), 1,38 (ddd, J=14,3, 9,0, 1,9 Гц, 1H).

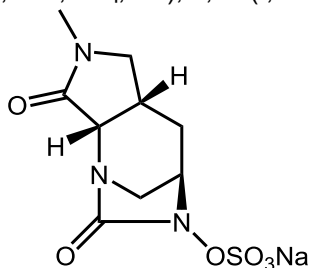


Стадія 3: (4R, 5aS, 8aS)-3-гідрокси-7-метилгексагідро-2H-1,4-метано-піроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(8aH)-діон. (2S, 3S, 5R)-метил 6-(бензилокси)-3-((метиламіно)-метил)-7-оксо-

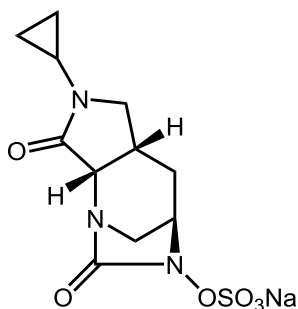
1,6-діазабіцикло[3.2.1]октан-2-карбоксилат (143 мг, 0,475 ммоль) розчиняли у метанолі (2,4 мл) та додавали Pd-C (10 %, Дегусса типу 101, 50 % води, 101 мг, 0,047 ммоль). Цю суміш відкачували у вакуумі та знову заповнювали H₂. Через 1 годину перемішування, цю суміш фільтрували через целіт та концентрували у вакуумі (температура бані < 30 °C) з одержанням заголовної сполуки (63 мг, 63 %) у вигляді білої твердої речовини. PX/MC: R_t=0,11 хвил.; m/z=211,9 (M+1) Метод 2m_acidic.



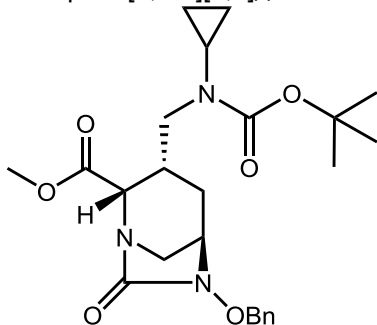
Стадія 4: тетрабутиламонію (4R, 5aS, 8aS)-7-метил-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат. (4R, 5aS, 8aS)-3-гідрокси-7-метилгексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(8aH)-діон (63 мг, 0,298 ммоль) розчиняли у піридині (2,9 мл) та додавали SO₃·піридин (237 мг, 1,49 ммоль). Реакційну суміш перемішували при кт впродовж 20 годин. Реакційну суміш фільтрували через одноразовий пластиковий фільтр та концентрували при зниженому тиску (температура бані < 30 °C). Цей матеріал розчиняли у NaH₂PO₄ (1 M, 10 мл) та додавали гідросульфат тетрабутиламонію (152 мг, 0,447 ммоль). Після перемішування впродовж 30 хвил. при кт, суміш екстрагували за допомогою EtOAc (4x). Об'єднані органічні шари промивали сольовим розчином, сушили над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі. Водну фазу додатково екстрагували за допомогою 20 % IPA у CHCl₃ (2x), сушили над сульфатом натрію та концентрували у вакуумі (температура бані < 30 °C). Об'єднаний органічний матеріал очищували шляхом силікагелевої хроматографії (MeOH-ДХМ, 0-30 %) з одержанням заголовної сполуки (62 мг, 39 %) у вигляді прозорої плівки. PX/MC: R_t=0,13 хвил.; m/z=291,9 (M+1) Метод 2m_acidic; ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ = 4,34 (br s, 1H), 4,04 (br d, J=7,3 Гц, 1H), 3,44 (dd, J=10,0, 5,6 Гц, 1H), 3,34 (br d, J=2,6 Гц, 1H), 3,28 (br dd, J=10,3 Гц, 5,1 Гц, 8H), 2,97-2,91 (m, 4H), 2,80 (d, J=12,0 Гц, 1H), 2,75-2,61 (m, 2H), 1,74-1,60 (m, 9H), 1,44 (sxt, J=7,4 Гц, 8H), 1,00 (t, J=7,3 Гц, 12H).



Стадія 5: натрію (4R, 5aS, 8aS)-7-метил-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат. DOWEX 50Wx8 водневу форму 200-400 меш кондиціонували шляхом перемішування з NaOH (2 N) впродовж 3 годин. Іонообмінну смолу завантажували у скляну колонку та промивали водою до pH ~6. Потім колонку промивали сумішшю вода:ацетон (1:1). Тетрабутиламонію (4R, 5aS, 8aS)-7-метил-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат (62 мг, 0,12 ммоль) розчиняли у суміші 1:1 ацетон:вода та пропускали через колонку з сумішшю ацетон:вода (1:1). Зразок частково концентрували у вакуумі (температура бані < 30 °C), потім ліофілізували з одержанням заголовної сполуки (32 мг, 83 %) у вигляді білого порошку. PX/MC: R_t=0,48 хвил.; m/z=291,8 (M+1) Метод T3_3m_polar; ¹H ЯМР (500МГц, D₂O) δ = 4,20-4,15 (m, 2H), 3,60 (dd, J=10,6, 6,4 Гц, 1H), 3,30 (dddd, J=12,3, 4,0, 2,7, 1,3 Гц, 1H), 3,13 (d, J=10,4 Гц, 1H), 2,90 (s, 3H), 2,86 (d, J=12,1 Гц, 1H), 2,77-2,69 (m, 1H), 2,49 (tdd, J=14,8, 8,8, 3,0 Гц, 1H), 1,59 (ddd, J=14,8, 8,9, 2,0 Гц, 1H).

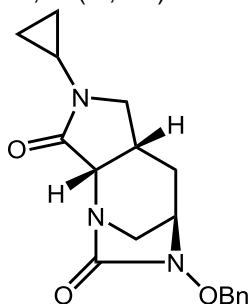


Приклад 3. Натрію (4R, 5aS, 8aS)-7-циклопропіл-2,8-діоксгексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат.



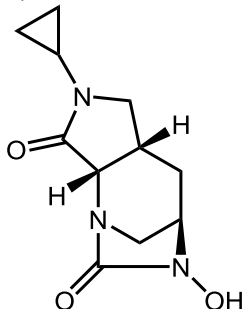
5 Стадія 1: (2S, 3S, 5R)-метил 6-(бензилокси)-3-(((трет-бутоксикарбоніл)(циклопропіл)аміно)метил)-7-оксо-1,6-діазабіцикло[3.2.1]октан-2-карбоксилат.

Перемішувану суміш проміжної сполуки С (4 г, 13,87 ммоль), 2-((трет-бутоксикарбоніл)(циклопропіл)аміно)оцтової кислоти (3,88 г, 18,04 ммоль), $\text{Ir}[\text{df}(\text{CF}_3)\text{ppy}_2(\text{dtbpy})]\text{PF}_6$ (0,156 г, 0,139 ммоль), та двоосновного фосфату калію (2,90 г, 16,65 ммоль) у ДМФА (40 мл) дегазували шляхом барботування N_2 впродовж 15 хвил... Цю суміш опромінювали у атмосфері N_2 за допомогою Kessil H150-Blue LED (охолодження вентилятором) впродовж 42 год., після чого суміш розводили насиченим NaHCO_3 , фільтрували та екстрагували за допомогою EtOAc (3x). Об'єднані органічні шари промивали водою, сольовим розчином, сушили над Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (EtOAc-гептани, 0-100 %). Цей матеріал знову очищували 2 два рази шляхом силікагелевої хроматографії (EtOAc-гептани 0-100 %, потім EtOAc-гептани, 0-70 %), що забезпечувало одержання заголовної сполуки (190 мг, 3 % вихід) у вигляді прозорої плівки. PX/MC: $R_t=0,99$ хвил.; $m/z=460,2$ ($M+1$) Метод $2m_acidic$; ^1H ЯМР (400МГц, CDCl_3) δ = 7,45-7,34 (m, 5H), 5,05 (d, $J=11,5$ Гц, 1H), 4,89 (d, $J=11,5$ Гц, 1H), 4,09 (d, $J=6,5$ Гц, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,37-3,25 (m, 2H), 3,17-3,07 (m, 1H), 2,92-2,83 (m, 1H), 2,64-2,52 (m, 1H), 2,44-2,35 (m, 1H), 2,09-1,98 (m, 1H), 1,68 (t, $J=12,7$ Гц, 1H), 1,58-1,52 (m, 1H), 1,44-1,39 (m, 9H), 0,80-0,66 (m, 2H), 0,59-0,46 (m, 2H).

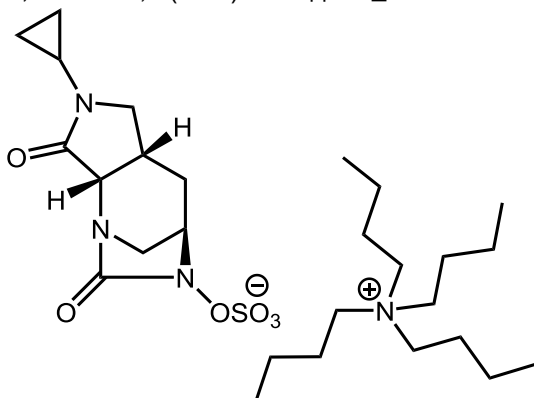


25 Стадія 2: (4R, 5aS, 8aS)-3-(бензилокси)-7-циклопропілгексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(8aH)-діон. До перемішувального розчину (2S, 3S, 5R)-метил 6-(бензилокси)-3-(((трет-бутоксикарбоніл)(циклопропіл)аміно)-метил)-7-оксо-1,6-діазабіцикло[3.2.1]октан-2-карбоксилату (190 мг, 0,413 ммоль), розчиненого у ДХМ (4,1 мл), ТФОК (0,796 мл, 10,34 ммоль) додавали краплинним способом при кт у атмосфері N_2 . Цей розчин перемішували при кт впродовж 90 хвил. та потім концентрували у вакуумі, розводили за допомогою ДХМ та знову концентрували (3x). Цей залишок розчиняли у ДХМ (2 мл) та охолоджували до 0 °C. Додавали TEA (0,576 мл, 4,13 ммоль) та цю суміш перемішували впродовж 18 год. при кт. Цей розчин концентрували при зниженому тиску та сирий матеріал очищували шляхом силікагелевої хроматографії (MeOH-ДХМ, 0-20 %), що забезпечувало одержання заголовної сполуки (103 мг,

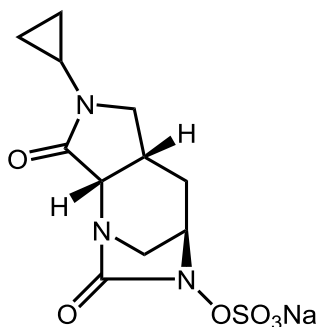
76 %) у вигляді прозорої плівки. PX/MC: $R_t=0,69$ хвил.; $m/z=328,0$ (M+1) Метод 2m_acidic; ^1H ЯМР (500МГц, DMSO-d_6) $\delta = 7,46-7,42$ (m, 2H), 7,41-7,33 (m, 3H), 4,97-4,89 (m, 2H), 3,87 (d, $J=7,8$ Гц, 1H), 3,59 (br s, 1H), 3,31-3,27 (m, 1H), 2,91-2,85 (m, 1H), 2,76 (d, $J=9,8$ Гц, 1H), 2,66 (tt, $J=7,5$, 4,1 Гц, 1H), 2,56 (d, $J=11,9$ Гц, 1H), 2,42 (dd, $J=8,5$, 6,1 Гц, 1H), 2,19 (ddt, $J=14,3$, 8,5, 3,0 Гц, 1H), 1,31 (ddd, $J=14,3$, 9,2, 1,9 Гц, 1H), 0,78-0,68 (m, 2H), 0,66-0,55 (m, 2H).



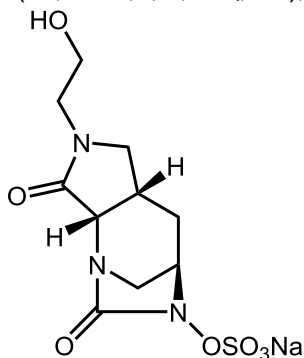
Стадія 3: (4R, 5aS, 8aS)-7-циклопропіл-3-гідроксигексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(8aH)-діон. (4R, 5aS, 8aS)-3-(бензилокси)-7-циклопропіл-гексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(8aH)-діон (103 мг, 0.315 ммоль) розчиняли у MeOH (3,2 мл) та додавали Pd-C (10 % Дегусса типу 101, 50 % води, 67,0 мг, 0,031 ммоль). Цю суміш дегазували у вакуумі та знову заповнювали H_2 . Після перемішування впродовж 40 хвил., цю суміш фільтрували через целіт та концентрували у вакуумі (температура бані < 30 °C) з одержанням заголовної сполуки (75 мг, 100 %) у вигляді білої твердої речовини. PX/MC: $R_t=0,54$ хвил.; $m/z=238,0$ (M+1) Метод 2m_acidic.



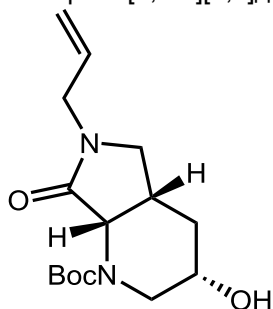
Стадія 4: Тетрабутиламонію (4R, 5aS, 8aS)-7-циклопропіл-2,8-діоксигексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-ілу сульфат. До розчину (4R, 5aS, 8aS)-7-циклопропіл-3-гідроксигексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(8aH)-діону (75 мг, 0,316 ммоль) у піридині (3,16 мл) додавали $\text{SO}_3 \cdot \text{піридин}$ (151 мг, 0,948 ммоль). Після перемішування впродовж 20 год., суспензію фільтрували та концентрували у вакуумі (температура бані < 30 °C). Сирий залишок розчиняли у насиченому NaH_2PO_4 (10 мл) та промивали за допомогою EtOAc. До водного шару додавали гідро-сульфат тетрабутиламонію (161 мг, 0,474 ммоль). Після перемішування впродовж 45 хвил. суміш екстрагували за допомогою ДХМ (4х), сушили над Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували у вакуумі (температура бані < 30 °C). Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (Ацетон-ДХМ, 0-100 %), що забезпечувало одержання 121 мг прозорої плівки. PX/MC: $R_t=0,14$ хвил.; $m/z=318,0$ (M+1) Метод 2m_acidic; ^1H ЯМР (400МГц, DMSO-d_6) $\delta = 3,93$ (br s, 1H), 3,87 (d, $J=7,8$ Гц, 1H), 3,34-3,29 (m, 1H), 3,19-3,13 (m, 8H), 2,99-2,94 (m, 1H), 2,78 (d, $J=9,7$ Гц, 1H), 2,68 (tt, $J=7,4$, 4,2 Гц, 1H), 2,57 (d, $J=11,9$ Гц, 1H), 2,46-2,36 (m, 1H), 2,26-2,17 (m, 1H), 1,61-1,52 (m, 8H), 1,35-1,26 (m, 9H), 0,93 (t, $J=7,3$ Гц, 12H), 0,78-0,69 (m, 2H), 0,66-0,57 (m, 2H).



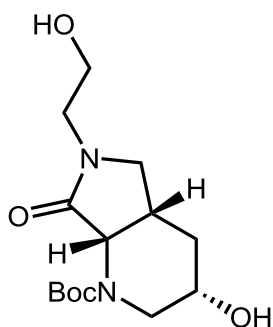
Стадія 5: Натрію (4R, 5aS, 8aS)-7-циклопропіл-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат. DOWEX 50Wx8 водневу форму 200-400 меш кондиціонували шляхом перемішування з NaOH (2 н.) впродовж 3 годин. Іонообмінну смолу завантажували у скляну колонку та промивали водою (до pH \approx 6), а потім сумішшю вода:ацетон (1:1). Розчин тетрабутиламонію (4R, 5aS, 8aS)-7-циклопропіл-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфату (121 мг, 0,217 ммоль) у суміші вода:ацетон (1:1) завантажували та пропускали через колонку, елюючи сумішшю вода:ацетон (1:1). Зразок концентрували у вакуумі (температура бані < 30 °C) та ліофілізували, що забезпечувало одержання заголовної сполуки (51 мг, 66 % вихід) у вигляді білого порошку. РХ/МС: $R_t=0,36$ хвил.; $m/z=318,0$ (M+1) Метод 2m_acidic; ^1H ЯМР (500МГц, D₂O) δ 4,20-4,14 (m, 2H), 3,55 (dd, J=10,6, 6,1, Гц, 1H), 3,32-3,26 (m, 1H), 3,09 (d, J=10,6 Гц, 1H), 2,83 (d, J=12,3 Гц, 1H), 2,73-2,65 (m, 2H), 2,50-2,42 (m, 1H), 1,51 (dd, J=14,6, 9,1 Гц, 1H), 0,90-0,74 (m, 3H), 0,71-0,63 (m, 1H).



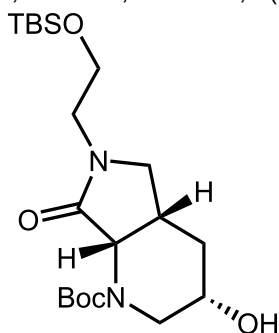
Приклад 4. Натрію (4R, 5aS, 8aS)-7-(2-гідроксиетил)-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат.



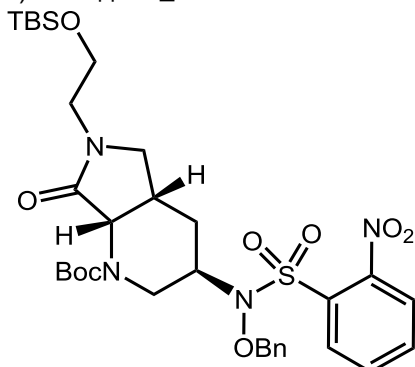
Стадія 1: трет-бутил (3S, 4aS, 7aS)-6-аліл-3-гідрокси-7-оксооктагідро-1H-піроло[3,4-b]піридин-1-карбоксилат. До розчину трет-бутил (3S, 4aS, 7aS)-3-гідрокси-7-оксооктагідро-1H-піроло[3,4-b]піридин-1-карбоксилату (1,50 г, 5,62 ммоль) у ДМФА (56 мл) при 0 °C додавали трет-бутоксид калію (1 М у ТГФ, 5,6 мл, 5,6 ммоль). Через 5 хвил. холодну баню прибирали та суміш залишали перемішуватися при кт впродовж 30 хвилин, потім охолоджували до 0 °C, після чого краплинним способом додавали алілбромід (490 мкл, 5,66 ммоль). Холодну баню прибирали через 5 хвил. та через ще 2 год. при кт, її концентрували у вакуумі та очищували безпосередньо шляхом силікагелевої хроматографії (етилацетат-гептан, 0-100 %) з одержанням заголовної сполуки (1,688 г, 81 %) у вигляді білої твердої речовини. РХ/МС: $R_t=0,70$ хвил.; $m/z=297,1$ (M+1) Метод 2m_acidic; ^1H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d₆)* δ = 5,72 (ddt, J=16,4, 11,1, 5,9 Гц, 1H), 5,23-5,15 (m, 2H), 4,96 (s, 1H), 4,77 (d, J=7,1 Гц, 0,5H), 4,62 (d, J=7,1 Гц, 0,5H), 3,97-3,85 (m, 1,5H), 3,85-3,75 (m, 1H), 3,71 (dd, J=15,3, 6,3 Гц, 0,5H), 3,49-3,42 (m, 1H), 2,83-2,77 (m, 1H), 2,50-2,40 (m, 1H), 2,14 (t, J=11,6 Гц, 0,5H), 2,03-1,91 (m, 1,5H), 1,42 (s, 4,5H), 1,38 (s, 4,5H) 0,96 (p, J=12,1 Гц, 1H). * Повідомлялися як суміш ротамерів.



Стадія 2: трет-бутил (3S, 4aS, 7aS)-3-гідрокси-6-(2-гідроксиетил)-7-оксооктагідро-1H-піроло[3,4-b]піридин-1-карбоксилат. Розчин трет-бутил (3S, 4aS, 7aS)-6-аліл-3-гідрокси-7-оксооктагідро-1H-піроло[3,4-b]піридин-1-карбоксилату (2,72 г, 9,18 ммоль) у ДХМ (92 мл) при -78 °C барботували O₃ впродовж 30 хвил. Потім у суміш пропускали O₂ впродовж ще 20 хвил. при -78 °C. До прозорого розчину додавали диметилсульфід (6,74 мл, 92 ммоль) та суміш нагрівали до кімнатної температури та перемішували впродовж 30 хвил. Суміш охолоджували до 0 °C та додавали MeOH (18 мл), а потім боргідрид натрію (694 мг, 18,4 ммоль), потім залишали повільно нагрітися до кімнатної температури. Через 14 год. при кт суміш охолоджували до 0 °C та додавали насичений NH₄Cl (водн., 10 мл). Через 20 хвилин при кт суміш концентрували у вакуумі, що супроводжували додаванням MeOH та знову концентрували. Цей залишок переносили у MeOH, фільтрували, потім знову концентрували. Додавали толуол та суспензію обробляли ультразвуком, потім знову концентрували. РХМС: R_t=0,40 хвил.; m/z=301,4 (M+1) Метод 2m_acidic.

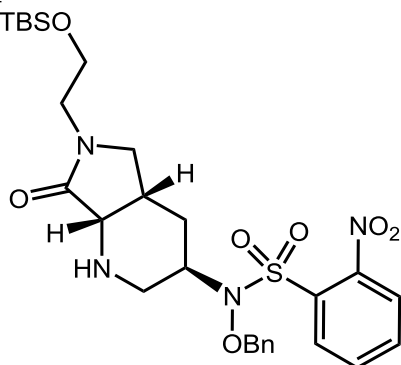


Стадія 3: трет-бутил (3S, 4aS, 7aS)-6-(2-((трет-бутилдиметил-силіл)окси)етил)-3-гідрокси-7-оксооктагідро-1H-піроло[3,4-b]піридин-1-карбоксилат. У розчин трет-бутил (3S, 4aS, 7aS)-3-гідрокси-6-(2-гідроксиетил)-7-оксооктагідро-1H-піроло[3,4-b]піридин-1-карбоксилату (9,18 ммоль) у піридині (18 мл) додавали TBS-Cl (1,384 г, 9,18 ммоль). Після перемішування впродовж 24 год. при кт суміш концентрували у вакуумі та переносили у EtOAc та промивали водою. Водний шар екстрагували за допомогою EtOAc (2x) та об'єднані органічні шари промивали сольовим розчином, сушили над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії, що забезпечувало одержання заголовної сполуки (2,433 г, 64 % 3-стадії) у вигляді білої твердої речовини. РХМС: R_t=0,89 хвил.; m/z=415,4 (M+1) Метод 2m_acidic.

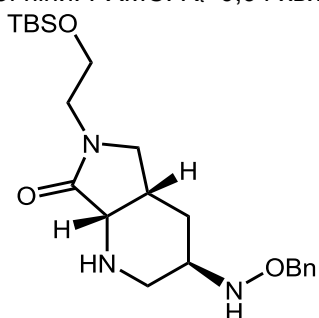


Стадія 4: трет-бутил (3R, 4aS, 7aS)-3-((N-(бензилокси)-2-нітрофеніл)сульфонамідо)-6-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)етил)-7-оксооктагідро-1H-піроло[3,4-b]піридин-1-карбоксилат. До розчину трет-бутил (3S, 4aS, 7aS)-6-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)етил)-3-гідрокси-7-оксооктагідро-1H-піроло[3,4-b]піридин-1-карбоксилату (2,411 г, 5,82 ммоль), N-(бензилокси)-2-

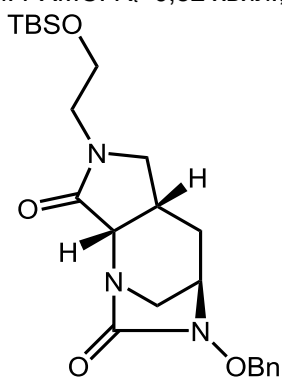
нітробензолсульфонамід (2,160 г, 7,01 ммоль) та трифенілфосфін (1,830 г, 6,98 ммоль) у ТГФ (65 мл) при -17 °С краплинним способом додавали DIAD (1,40 мл, 6,98 ммоль) у вигляді розчину у ТГФ (10 мл). Суміш залишали повільно нагріватися до кімнатної температури та перемішували впродовж 18 годин, потім концентрували у вакуумі та очищували безпосередньо шляхом силікагелевої хроматографії, що забезпечувало одержання заголовної сполуки (1,785 г, 44 % вихід) у вигляді білої твердої речовини. PXMC: $R_f=1,15$ хвил.; $m/z=705,4$ (M+1) Метод 2m_acidic.



Стадія 4: N-(бензилокси)-N-((3R, 4aS, 7aS)-6-(2-((трет-бутилдиметил-силіл)окси)етил)-7-оксооктагідро-1H-піроло[3,4-b]піридин-3-іл)-2-нітробензол-сульфонамід. До колби, завантаженої бромідом цинку(II) (1,21 г, 5,37 ммоль, сушили при 200 °С впродовж 3 годин, додавали розчин трет-бутил (3R, 4aS, 7aS)-3-((N-(бензилокси)-2-нітрофеніл)сульфонамідо)-6-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)етил)-7-оксооктагідро-1H-піроло[3,4-b]піридин-1-карбоксилат (1,79 г, 2,53 ммоль) у ДХМ (8,5 мл). Після перемішування при кт впродовж 18 год., цю суміш розводили за допомогою ДХМ та гасили насиченим NaHCO_3 . Після припинення барботування, шари розділяли та водний шар екстрагували за допомогою ДХМ (3х). Об'єднані органічні шари сушили над Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували у вакуумі, що приводило до одержання білої піни. PXMC: $R_f=0,94$ хвил.; $m/z=605,3$ (M+1) Метод 2m_acidic.

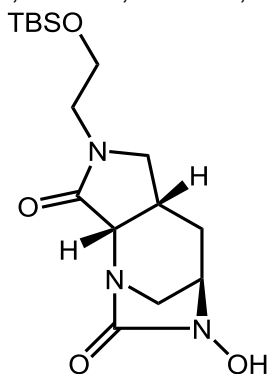


Стадія 5: (3R, 4aS, 7aS)-3-((бензилокси)аміно)-6-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)етил)октагідро-7H-піроло[3,4-b]піридин-7-он. До суспензії N-(бензилокси)-N-((3R, 4aS, 7aS)-6-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)етил)-7-оксооктагідро-1H-піроло[3,4-b]піридин-3-іл)-2-нітробензолсульфонаміду (1,53 г, 2,53 ммоль) та K_2CO_3 (1,753 г, 12,68 ммоль) у ACN (25 мл) додавали тіофенол (1,343 мл, 12,65 ммоль). Через 22 год. суміш фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії, що забезпечувало одержання заголовної сполуки (919 мг, 87 %, 2-стадії) у вигляді брудно-білої піни. PXMC: $R_f=0,82$ хвил.; $m/z=420,4$ (M+1) Метод 2m_acidic.

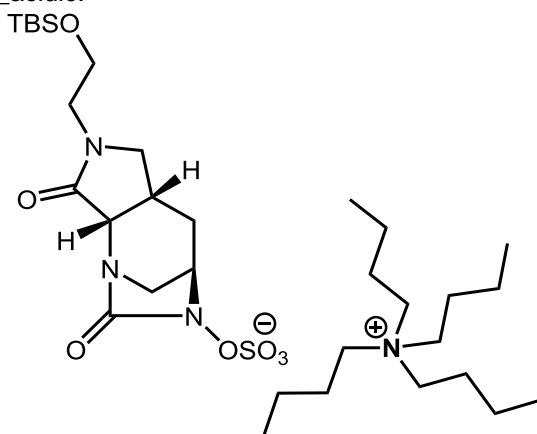


Стадія 6: (4R, 5aS, 8aS)-3-(бензилокси)-7-(2-((трет-бутилдиметил-силіл)окси)етил)-

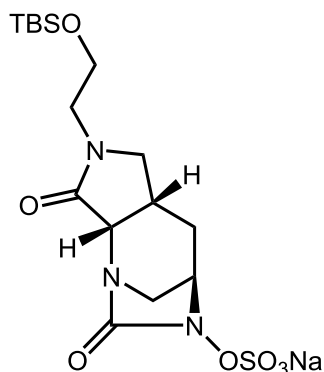
гексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(3H)-діон. До розчину (3R, 4aS, 7aS)-3-((бензилокси)аміно)-6-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)-окси)етил)октагідро-7H-піроло[3,4-b]піридин-7-ону (919 мг, 2,19 ммоль) та DIPEA (1,2 мл, 6,87 ммоль) у ацетонітрилі (68,4 мл) при 0 °C додавали фосген (15-20 % у толуолі, 1,60 мл, 2,24 ммоль) у вигляді розчину у ацетонітрилі (10 мл) при швидкості 8 мл/год. Суміш залишили повільно нагрітися до кімнатної температури. Через 20 год. суміш концентрували у вакуумі, розподіляли між EtOAc/HCl (водн., 0,2 M) та фази розділяли. Водний шар екстрагували за допомогою EtOAc (2x) та об'єднані органічні шари промивали сольовим розчином, насиченим NaHCO₃, сушили над Na₂SO₄/MgSO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії, що забезпечувало одержання заголовної сполуки (549 мг, 56 %) у вигляді білої піни. РХМС: R_t=0,95 хвил.; m/z=446,4 (M+1) Метод 2m_acidic.



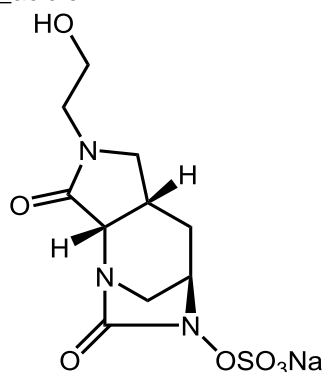
Стадія 7: (4R, 5aS, 8aS)-7-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)етил)-3-гідроксигексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(3H)-діон. Суспензію (4R, 5aS, 8aS)-3-(бензилокси)-7-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)етил)гексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(3H)-діону (110 мг, 0,247 ммоль) та Pd-C (10 % Дегусса типу 101, 50 % води, 25 мг, 0,012 ммоль) у MeOH (2,5 мл) дегазували та знову заповнювали H₂ (3x). Через 3 год. енергійного перемішування суспензію барботували за допомогою N₂, фільтрували через целіт та концентрували у вакуумі. Додавали толуол та суміш обробляли ультразвуком, потім знову концентрували. Одержували кількісний вихід. РХМС: R_t=0,71 хвил.; m/z=356,4 (M+1) Метод 2m_acidic.



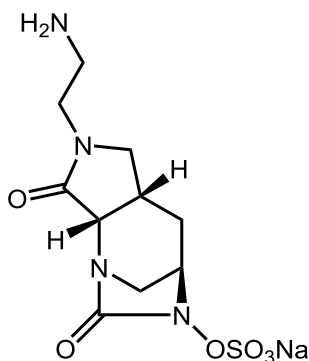
Стадія 8: Тетрабутиламонію (4R, 5aS, 8aS)-7-(2-((трет-бутилдиметил-силіл)окси)етил)-2,8-діоксигексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат. До розчину (4R, 5aS, 8aS)-7-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)етил)-3-гідроксигексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(3H)-діону (0,247 ммоль) у піридині (1,6 мл) додавали SO₃•Py (197 мг, 1,24 ммоль). Після перемішування впродовж 17 год. при кт цю суміш концентрували у вакуумі та суспендували у ДХМ, потім фільтрували та знову концентрували у вакуумі. Отриману тверду речовину розчиняли у NaH₂PO₄ (1 M водн., 20 мл), після чого додавали гідросульфат тетрабутиламонію (131 мг, 0,386 ммоль). Після перемішування впродовж 45 хвил. суміш екстрагували за допомогою ДХМ (4x) та об'єднані органічні шари сушили над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (MeOH-ДХМ, 0-20 %) з одержанням заголовної сполуки (56 мг, 34 %, 3-стадії) у вигляді брудно-білої піни. РХМС: R_t=0,81 хвил.; m/z=436,3 (M+1) Метод 2m_acidic.



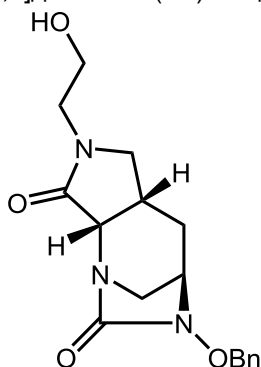
Стадія 9: Натрію (4R, 5aS, 8aS)-7-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)-окси)етил)-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат. DOWEX 50Wx8 водневу форму 200-400 меш кондиціювали шляхом перемішування з NaOH (2 N) впродовж 3 годин. Іонообмінну смолу завантажували у скляну колонку та промивали водою (до pH \approx 6), а потім сумішшю вода:ацетон (1:1). Розчин тетрабутиламонію (4R, 5aS, 8aS)-7-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)етил)-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфату (56 мг, 0,083 ммоль) у суміші вода:ацетон (1:1) завантажували та пропускали через колонку, елюючи сумішшю вода:ацетон (1:1). Зразок концентрували у вакуумі (температура бані < 30 °C) та ліофілізували, що забезпечувало одержання заголовної сполуки (36 мг, 95 % вихід) у вигляді білого порошку. PXMC: R_t=0,84 хвил.; m/z=436,3 (M+1) Метод 2m_acidic.



Стадія 10: Натрію (4R, 5aS, 8aS)-7-(2-гідроксиетил)-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат. До суспензії натрію (4R, 5aS, 8aS)-7-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)етил)-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфату (36 мг, 0,079 ммоль) у ацетонітрилі (790 мкл) краплинним способом додавали тригідрофторид триетиламіну (13,07 мкл, 0,079 ммоль), та отриманий розчин нагрівали до 45 °C впродовж 3 годин. Додавали додаткову кількість тригідрофториду триетиламіну (13,07 мкл, 0,079 ммоль) та цю суміш нагрівали до 45 °C впродовж 2 год., потім концентрували у вакуумі. Сирий залишок переносили у фосфатний буфер (pH=6) та очищували шляхом обернено-фазової препаративної ВЕРХ (Т3, колонка Atlantis, 30 × 100 мм, 5 мкм, С18 колонка; ACN-вода з 3,75 ммоль NH₄OAC буфер, 20-60 мл/хвил.), що забезпечувало одержання заголовної сполуки (13,9 мг) у вигляді білого порошку. PXMC: R_t=0,34 хвил.; m/z=322,2 (M+1) Метод Т3_3m_polar. ¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 4,8 (d, J=8,0 Гц, 1H), 4,14 (s, 1H), 3,69 (t, J=5,4 Гц, 2H), 3,61 (dd, J=10,7, 6,3 Гц, 1H), 3,49-3,37 (m, 2H), 3,29-3,22 (m, 1H), 3,17-3,14 (m, 1H), 2,84 (d, J=12,2 Гц, 1H), 2,75 – 2,67 (m, 1H), 2,45 (ddt, J=14,7, 8,7, 3,0 Гц, 1H), 1,54 (ddd, J=14,8, 9,0, 2,0 Гц, 1H).



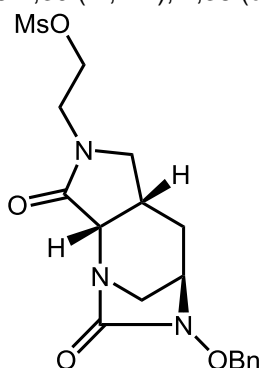
Приклад 5. (4R, 5aS, 8aS)-7-(2-аміноетил)-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метано-піроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл гідросульфат.



5 Стадія 1: (4R, 5aS, 8aS)-3-(бензилокси)-7-(2-гідроксиетил)гексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(3H)-діон. До розчину (4R, 5aS, 8aS)-3-(бензилокси)-7-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)етил)гексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(3H)-діону (530 мг, 1,19 ммоль) у ТГФ (12 мл) при 0 °С додавали TBAF (1,2 мл, 1,20 ммоль). Через 1 год. при 0 °С суміш концентрували у вакуумі, розподіляли між EtOAc/вода та фази розділяли.

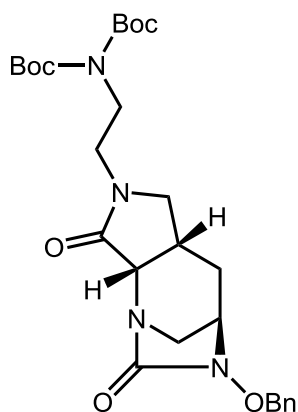
10 Водний шар екстрагували за допомогою EtOAc (2x) та об'єднані органічні шари промивали сольовим розчином, сушили над Na₂SO₄/MgSO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (MeOH-ДХМ, 0-7 %) з одержанням заголовної сполуки (268 мг, 68 %) у вигляді білої твердої речовини. РХМС: R_t=0,55 хвил.; m/z=332,3 (M+1) Метод 2m_acidic. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃-d) δ 7,48-7,36 (m, 5H), 5,09 (d, J=11,3 Гц, 1H), 4,93 (d, J=11,2 Гц, 1H), 4,18 (d, J=7,8 Гц, 1H), 3,87-3,75 (m, 2H), 3,66-3,54 (m, 2H), 3,42-3,35 (m, 1H), 3,30 (s, 1H), 3,10 (d, J=12,2 Гц, 1H), 3,03 (d, J=10,1 Гц, 1H), 2,81-2,72 (m, 2H), 2,48-2,39 (m, 2H), 1,38 (dd, J=14,2, 9,2 Гц, 1H).

15

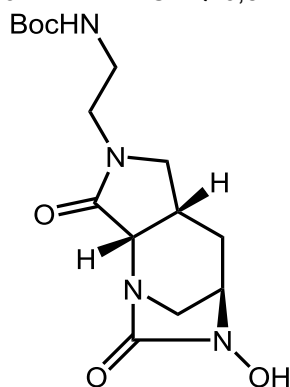


20 Стадія 2: 2-((4R, 5aS, 8aS)-3-(бензилокси)-2,8-діоксооктагідро-7H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-7-іл)етил метансульфонат. До розчину (4R, 5aS, 8aS)-3-(бензилокси)-7-(2-гідроксиетил)гексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(3H)-діону (265,4 мг, 0,801 ммоль) та ТЕА (140 мкл, 1,00 ммоль) у ДХМ (4,0 мл) додавали MsCl (65,5 мкл, 0,841 ммоль). Через 45 хвил. суміш промивали водою. Водний шар екстрагували за допомогою ДХМ (2x) та об'єднані органічні шари сушили над Na₂SO₄/MgSO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі,

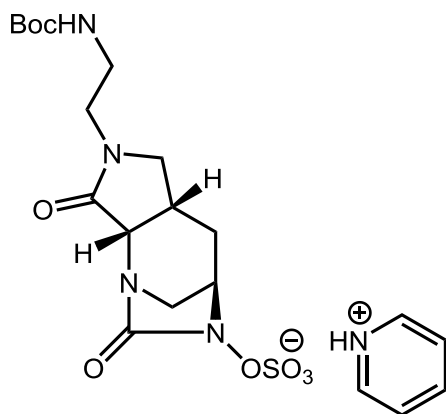
25 що забезпечувало одержання заголовної сполуки (332 мг) у вигляді білої твердої речовини. РХМС: R_t=0,55 хвил.; m/z=410,3 (M+1) Метод 2m_acidic.



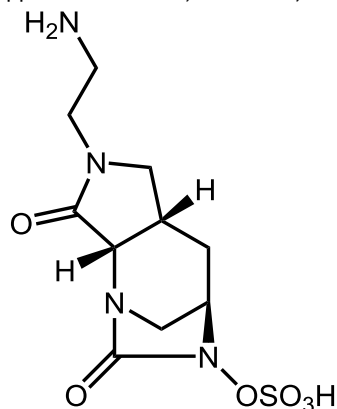
Стадія 3: Ди-трет-бутил (2-((4R, 5aS, 8aS)-3-(бензилокси)-2,8-діоксооктагідро-7H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-7-іл)етил)-імінодикарбоксилат. До розчину ди-трет-бутил-імінодикарбоксилат (153 мг, 0,704 ммоль) у ДМФА (3,2 мл) додавали трет-бутоксид калію (1 M у ТГФ, 700 мкл, 0,700 ммоль). Через 30 хвил. при кт додавали розчин 2-((4R, 5aS, 8aS)-3-(бензилокси)-2,8-діоксооктагідро-7H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-7-іл)етил метансульфонату (262 мг, 0,640 ммоль) у ДМФА (2 мл, 2 × 500 мкл промивні води). Суміш перемішували при кт впродовж 10 хвил., нагрівали до 50 °C впродовж 100 хвил., потім перемішували при кт впродовж 12 год., після чого суміш розводили за допомогою EtOAc та промивали сольовим розчином (½ насиченим). Водний шар екстрагували за допомогою EtOAc (2x) та об'єднані органічні шари сушили над Na₂SO₄/MgSO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (EtOAc-гептан, 0-90 %), що забезпечувало одержання заголовної сполуки (293 мг, 86 %) у вигляді білої твердої речовини. PXMC: R_t=0,87 хвил.; m/z=431,4 (M-Boc+1) Метод 2m_acidic.



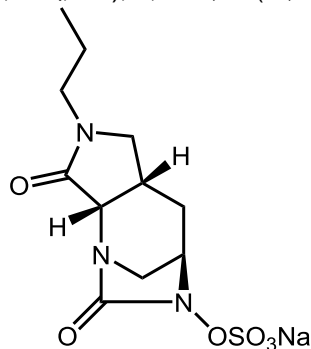
Стадія 4: трет-бутил (2-((4R, 5aS, 8aS)-3-гідрокси-2,8-діоксооктагідро-7H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-7-іл)етил)карбамат. Суспензію ди-трет-бутил (2-((4R, 5aS, 8aS)-3-(бензилокси)-2,8-діоксооктагідро-7H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-7-іл)етил)імінодикарбоксилату (226,8 мг, 0,427 ммоль) та Pd-C (10 % Дегусса типу 101, 50 % вода, 45,3 мг, 0,021 ммоль) у MeOH (4,2 мл) дегазували та знову заповнювали H₂ (3x). Через 3 год. енергійного перемішування суспензію барботували за допомогою N₂, фільтрували через целіт та концентрували у вакуумі. Толуол додавали та суміш обробляли ультразвуком, потім знову концентрували. Одержували кількісний вихід. PXMC: R_t=0,65 хвил.; m/z=341,4 (M+1) Метод 2m_acidic.



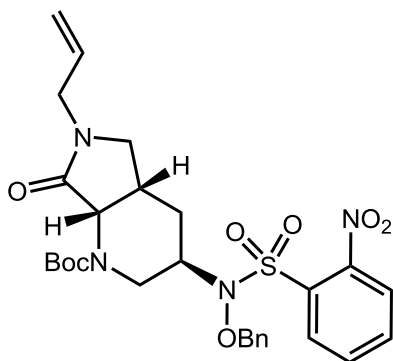
Стадія 5: Піридин-1-іум (4R, 5aS, 8aS)-7-(2-((трет-бутоксикарбоніл)-аміно)етил)-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат. До розчину трет-бутил (2-((4R, 5aS, 8aS)-3-гідрокси-2,8-діоксооктагідро-7H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-7-іл)етил)карбамату у піридині (3 мл) додавали $\text{SO}_3 \cdot \text{піридин}$ (335 мг, 2,10 ммоль). Через 15 год. при кт суміш концентрували у вакуумі, суспендували у ДХМ та фільтрували, що забезпечувало одержання заголовної сполуки у вигляді брудно-білої твердої речовини. Одержували кількісний вихід. РХМС: $R_t=0,59$ хвил.; $m/z=321,4$ (M-Boc+1) Метод 2m_acidic.



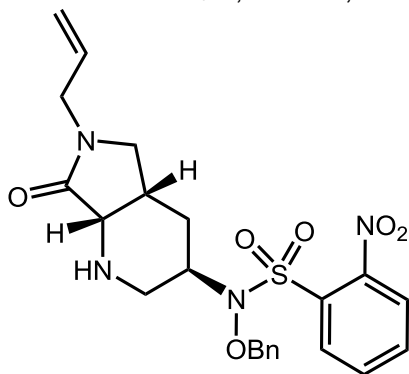
Стадія 6: (4R, 5aS, 8aS)-7-(2-аміноетил)-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл гідросульфат. До суспензії піридин-1-іум (4R, 5aS, 8aS)-7-(2-((трет-бутоксикарбоніл)аміно)етил)-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфату (210 мг, 0,421 ммоль) у ДХМ (4,2 мл) при 0 °C додавали ТФОК (973 мкл, 12,63 ммоль). Через 2,5 год. при 0 °C суміш концентрували у вакуумі, суспендували у ДХМ та знову концентрували. Сирий залишок переносили у фосфатний буфер (pH=6), фільтрували та очищували шляхом обернено-фазової препаративної ВЕРХ (ТЗ, колонка Atlantis, 30 × 100 мм, 5 мкм, C18 колонка; вода з 3,75 ммоль NH_4OAC буфер, 20-60 мл/хвил.), що забезпечувало одержання заголовної сполуки (155 мг) у вигляді білого порошку. РХМС: $R_t=0,22$ хвил.; $m/z=321,4$ (M+1) Метод ТЗ_3m_polar. ^1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ 4,00 (d, J=8,1 Гц, 1H), 3,94 (s, 1H), 3,61 (dt, J=14,3, 6,9 Гц, 1H), 3,45 (dd, J=10,5, 6,4 Гц, 1H), 3,28 (dt, J=14,8, 5,6 Гц, 1H), 3,06 (br d, J=12,4 Гц, 1H), 2,96 (t, J=6,2 Гц, 2H), 2,92 (d, J=10,5 Гц, 1H), 2,68 (d, J=12,3 Гц, 1H), 2,55 (p, J=8,3 Гц, 1H), 2,31-2,21 (m, 1H), 1,38 (dd, J=14,9, 9,1 Гц, 1H).



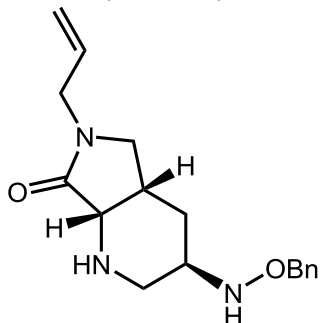
Приклад 6. Натрію (4R, 5aS, 8aS)-2,8-діоксо-7-пропілгексагідро-2H-1,4-метано-піроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат.



Стадія 1: трет-Бутил (3R, 4aS, 7aS)-6-аліл-3-((N-(бензилокси)-2-нітрофеніл)сульфонамідо)-7-оксооктагідро-1H-піроло[3,4-b]піридин-1-карбоксилат. До розчину трет-бутил (3S, 4aS, 7aS)-6-аліл-3-гідрокси-7-оксооктагідро-1H-піроло[3,4-b]піридин-1-карбоксилату (786,4 мг, 2,65 ммоль),
 5 N-(бензилокси)-2-нітробензолсульфонаміду (900 мг, 2,92 ммоль) та трифенілфосфіну (835 мг, 3,18 ммоль) у ТГФ (29 мл) при -17 °С додавали DIAD (0,640 мл, 3,18 ммоль) у вигляді розчину у ТГФ (4,1 мл) краплинним способом у 6:30 вечора. Суміш залишили повільно нагрітися до кімнатної температури та перемішували впродовж 22 год., потім концентрували у вакуумі та очищували безпосередньо шляхом силікагелевої хроматографії (EtOAc-гептан, 0-40 %), що
 10 забезпечувало одержання заголовної сполуки (846 мг, 54 %) у вигляді брудно-білої твердої речовини. PXMC: $R_t=0,95$ хвил.; $m/z=587,3$ (M+1) Метод 2m_acidic.

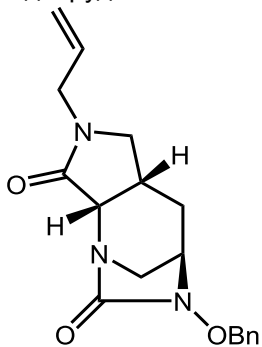


Стадія 2: N-((3R, 4aS, 7aS)-6-аліл-7-оксооктагідро-1H-піроло[3,4-b]піридин-3-іл)-N-(бензилокси)-2-нітробензолсульфонамід. До колби, завантаженої бромідом цинку(II) (681 мг, 3,02 ммоль, висушений при 200 °С впродовж 4 год.) та трет-бутил (3R, 4aS, 7aS)-6-аліл-3-((N-(бензилокси)-2-нітрофеніл)сульфонамідо)-7-оксооктагідро-1H-піроло[3,4-b]піридин-1-карбоксилатом (845 мг, 1,44 ммоль), у атмосфері N_2 , додавали ДХМ (4,8 мл). Після перемішування при кт впродовж 15 год., суміш розводили за допомогою ДХМ та гасили насиченим $NaHCO_3$. Після припинення барботування, шари розділяли та водний шар екстрагували за допомогою ДХМ (3х). Об'єднані органічні шари сушили над Na_2SO_4 та концентрували у вакуумі, що приводило до одержання білої піни. Одержували кількісний вихід.
 20 PXMC: $R_t=0,70$ хвил.; $m/z=487,2$ (M+1) Метод 2m_acidic.

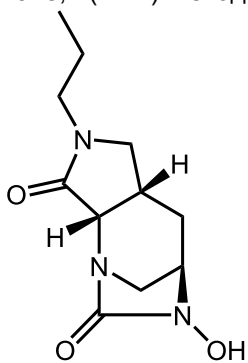


Стадія 3: (3R, 4aS, 7aS)-6-аліл-3-((бензилокси)аміно)октагідро-7H-піроло[3,4-b]піридин-7-он. До суспензії N-((3R, 4aS, 7aS)-6-аліл-7-оксооктагідро-1H-піроло[3,4-b]піридин-3-іл)-N-(бензилокси)-2-нітробензолсульфонаміду (1,44 ммоль) та K_2CO_3 (995 мг, 7,20 ммоль) у ACN (14,4 мл) додавали тіофенол (764 мкл, 7,20 ммоль). Через 21 год. суміш фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (MeOH-ДХМ, 0-8 %), що забезпечувало одержання заголовної сполуки (385 мг, 89 %, 2-стадії) у
 25

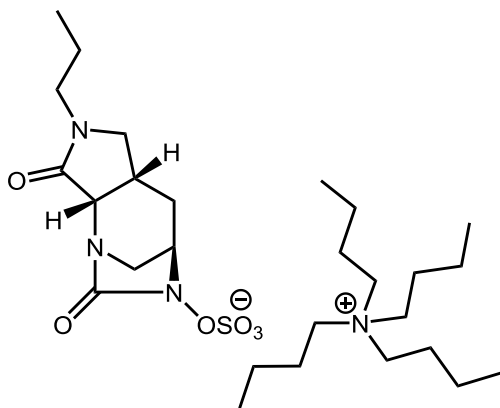
вигляді брудно-білої піни. PXMC: $R_t=0,49$ хвил.; $m/z=302,4$ (M+1) Метод 2m_acidic.



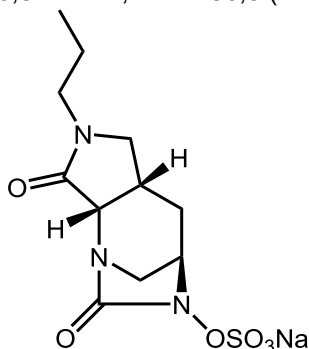
Стадія 4: (4R, 5aS, 8aS)-7-аліл-3-(бензилокси)гексагідро-2H-1,4-метано-піроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(3H)-діон. До розчину (3R, 4aS, 7aS)-6-аліл-3-((бензилокси)аміно)октагідро-7H-піроло[3,4-b]піридин-7-ону (385 мг, 1,28 ммоль) та DIPEA (670 мкл, 3,83 ммоль) у ACN (40 мл) при 0 °C додавали фосген (1,20 мл, 1,66 ммоль) у вигляді розчину у ACN (5,7 мл) при швидкості 6,5 мл/год. Суміш залишили повільно нагрітися до кімнатної температури. Через 20 год. суміш концентрували у вакуумі, розподіляли між EtOAc/HCl (0,2 н.) та фази розділяли. Водний шар екстрагували за допомогою EtOAc (3х) та об'єднані органічні шари промивали сольовим розчином та насиченим NaHCO_3 . Ці сольові промивні розчини об'єднували з насиченими NaHCO_3 промивними розчинами та цей розчин екстрагували за допомогою 10 % MeOH/ДХМ (2х). Кислотний водний шар знову екстрагували за допомогою 10 % MeOH/ДХМ (2х) та об'єднані органічні шари сушили над Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (MeOH-ДХМ, 0-10 %), що забезпечувало одержання заголовної сполуки (369,2 мг, 88 %) у вигляді білої піни. PXMC: $R_t=0,60$ хвил.; $m/z=328,4$ (M+1) Метод 2m_acidic.



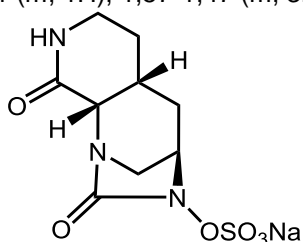
Стадія 5: (4R, 5aS, 8aS)-3-гідрокси-7-пропілгексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(3H)-діон. Суспензію (4R, 5aS, 8aS)-7-аліл-3-(бензилокси)гексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(3H)-діону (209 мг, 0,638 ммоль) та Pd-C (10 % Дегусса типу 101, 50 % вода, 41 мг, 0,019 ммоль) у MeOH (6,4 мл) дегазували та знову заповнювали H_2 (3х). Через 5 год. енергійного перемішування суспензію барботували за допомогою N_2 , додавали ще Pd-C (10 % Дегусса типу 101, 50 % вода, 41 мг, 0,019 ммоль) та суміш дегазували та знову заповнювали H_2 (3х). Через 2 год. енергійного перемішування суміш барботували N_2 , потім фільтрували через целіт та концентрували у вакуумі. Додавали толуол та суміш обробляли ультразвуком, потім знову концентрували. Одержували кількісний вихід. PXMC: $R_t=0,27$ хвил.; $m/z=240,3$ (M+1) Метод 2m_acidic.



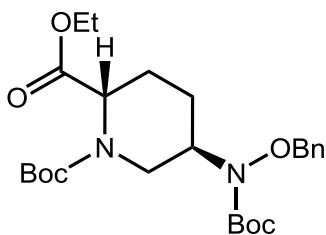
- Стадія 6: Тетрабутиламонію (4R, 5aS, 8aS)-2,8-діоксо-7-пропіл-гексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат. До розчину (4R, 5aS, 8aS)-3-гідрокси-7-пропілгексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(3H)-діону (0,638 ммоль) у піридині (6,4 мл) додавали $\text{SO}_3 \cdot \text{Py}$ (508 мг, 3,19 ммоль). Після перемішування впродовж 13 год. при кт цю суміш фільтрували та концентрували у вакуумі. Отриману тверду речовину розчиняли у NaH_2PO_4 (1 М водн., 40 мл), після цього додавали гідросульфат тетрабутиламонію (325 мг, 0,957 ммоль). Після перемішування впродовж 1,5 год. суміш екстрагували за допомогою ДХМ (4х) та об'єднані органічні шари сушили над Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (MeOH-ДХМ, 0-15 %) з одержанням заголовної сполуки (229 мг, 64 %, 3-стадії) у вигляді білої твердої речовини. РХМС: $R_t=0,81$ хвил.; $m/z=436,3$ (M+1) Метод 2m_acidic.



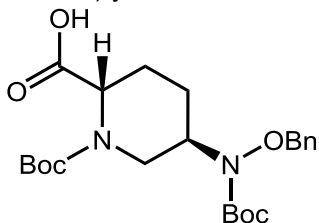
- Стадія 7: Натрію (4R, 5aS, 8aS)-2,8-діоксо-7-пропілгексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат. DOWEX 50Wx8 водневу форму 200-400 меш кондиціонували шляхом перемішування з NaOH (2 н.) впродовж 2 год. Іонообмінну смолу завантажували у скляну колонку та промивали водою (до $\text{pH} \approx 6$), а потім сумішшю вода:ацетон (1:1). Розчин тетрабутиламонію (4R, 5aS, 8aS)-2,8-діоксо-7-пропілгексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфату (228 мг, 0,408 ммоль) у суміші вода:ацетон (1:1) завантажували та пропускали через колонку, елюючи сумішшю вода:ацетон (1:1). Зразок концентрували у вакуумі (температура бані $< 30^\circ\text{C}$) та ліофілізували, що забезпечувало одержання заголовної сполуки (120 мг, 85 %) у вигляді білого порошку. РХМС: $R_t=0,30$ хвил.; $m/z=320,3$ (M+1) Метод 2m_acidic. ^1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ 4,18 (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 4,14 (s, 1H), 3,54 (dd, $J=10,9, 6,3$ Гц, 1H), 3,32-3,17 (m, 3H), 3,10 (d, $J=10,8$ Гц, 1H), 2,80 (d, $J=12,2$ Гц, 1H), 2,69 (p, $J=8,2$ Гц, 1H), 2,50-2,41 (m, 1H), 1,57-1,47 (m, 3H), 0,81 (t, $J=7,4$, 3H).



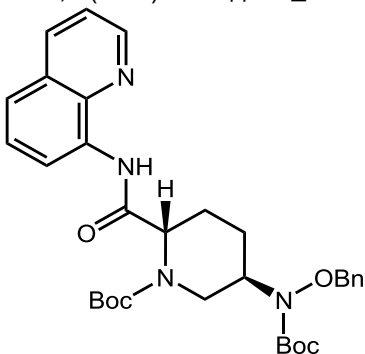
Приклад 7. Натрію (4R, 5aR, 9aS)-2,9-діоксооктагідро-1,4-метанопіrido[3,4-d][1,3]діазепін-3(2H)-іл гідросульфат.



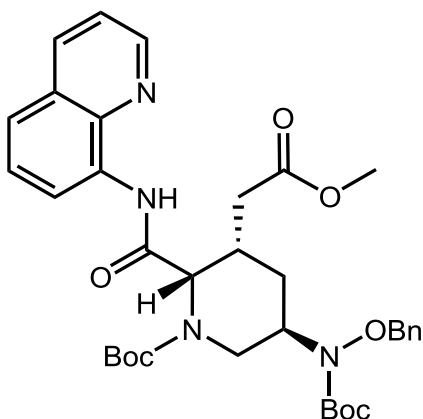
Стадія 1: 1-(трет-бутил) 2-етил (2S, 5R)-5-((бензилокси)(трет-бутоксикарбоніл)аміно)піперидин-1,2-дикарбоксилат. До суспензії (2S, 5R)-етил 5-((бензилокси)аміно)піперидин-2-карбоксилат оксалату (13,25 г, 36,0 ммоль) у EtOAc (200 мл) додавали Na₂CO₃ (2,0 М, 80 мл, 160 ммоль) та гідроксид натрію (1,0 М, 40 мл, 40 ммоль). Цю суміш перемішували при кімнатній температурі впродовж 30 хвил. Утворений осад відфільтровували та два шари фільтрату розділяли. Органічний шар промивали сольовим розчином (50 мл), сушили над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі, що забезпечувало одержання в'язкого масла (10,0 г). До розчину цього масла (10,0 г, 35,9 ммоль) у ТГФ (100 мл) додавали Вос-ангідрид (23,5 г, 108 ммоль), триетиламін (15,0 мл, 108 ммоль) та DMAP (4,38 г, 35,9 ммоль). Реакційну суміш перемішували впродовж 60 год. та потім нагрівали при 50 °C впродовж 2 днів. Розчинник видаляли у вакуумі та переносили назад у EtOAc/гептан (300 мл, 1/1), промивали водою (100 мл), HCl (0,1 н., 50 мл), сольовим розчином (50 мл), сушили над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (EtOAc-гептан, 0-40 %) з одержанням заголовної сполуки (9,6 г, 55 %) у вигляді масла. РХМС: R_t=1,19 хвил., m/z=479,2 (M+1), Метод 2m_acidic.



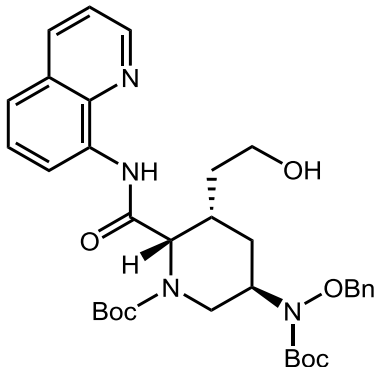
Стадія 2: (2S, 5R)-5-((бензилокси)(трет-бутоксикарбоніл)аміно)-1-(трет-бутоксикарбоніл)піперидин-2-карбонова кислота. До розчину 1-(трет-бутил) 2-етил (2S, 5R)-5-((бензилокси)(трет-бутоксикарбоніл)аміно)піперидин-1,2-дикарбоксилату (9,60 мг, 20,06 ммоль) у ТГФ:MeOH (3:1, 80 мл) при 0 °C повільно додавали розчин гідроксиду натрію (1 н., 40 мл). Через 5 год. при кт, повільно додавали HCl (1 н., 41 мл), суміш екстрагували за допомогою EtOAc (300 мл). Органічний шар сушили над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі з одержанням заголовної сполуки (8,78 г, 97 %) у вигляді м'якої речовини. РХМС: R_t=1,05 хвил., m/z=451,2 (M+1) Метод 2m_acidic.



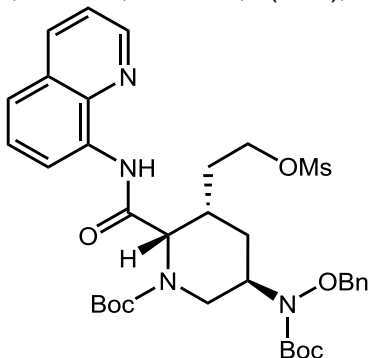
Стадія 3: трет-Бутил (2S, 5R)-5-((бензилокси)(трет-бутоксикарбоніл)-аміно)-2-(хінолін-8-ілкарбамоїл)піперидин-1-карбоксилат. До розчину (2S, 5R)-5-((бензилокси)(трет-бутоксикарбоніл)аміно)-1-(трет-бутоксикарбоніл)піперидин-2-карбонової кислоти (6,010 г, 13,34 ммоль) у ДХМ (100 мл) при 0 °C додавали хінолін-8-амін (2116 мг, 14,67 ммоль), а потім DIPEA (4,66 мл, 26,7 ммоль) та HATU (6,087 г, 16,01 ммоль). Після перемішування у атмосфері аргону при кт впродовж 2,5 год., цю суміш виливали у воду (150 мл) та екстрагували за допомогою ДХМ (100 мл). Органічний шар сушили над MgSO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (EtOAc-гептан, 10-40 %), що забезпечувало одержання заголовної сполуки (6,60 г, 86 %) у вигляді м'якої речовини. РХМС: R_t=1,22 хвил., m/z=577,3 (M+1), Метод 2m_acidic.



Стадія 4: трет-Бутил (2S, 3S, 5R)-5-((бензилокси)(трет-бутоксикарбоніл)аміно)-3-(2-метокси-2-оксоетил)-2-(хінолін-8-ілкарбамоїл)піперидин-1-карбоксилат. До розчину трет-бутил (2S, 5R)-5-((бензилокси)(трет-бутоксикарбоніл)аміно)-2-(хінолін-8-ілкарбамоїл)піперидин-1-карбоксилату (5,580 г, 9,68 ммоль) у 2-метил-2-бутанолі (95 мл) додавали дибензил гідрофосфат (538 мг, 1,94 ммоль), карбонат срібла (5,336 мг, 19,35 ммоль), Pd(II) ацетат (434 мг, 1,94 ммоль) та метил 2-бромацетат (2,83 мл, 29,0 ммоль). Цю суміш барботували аргонном, запечатували та нагрівали до 110 °C впродовж 20 годин. Додавали ще ацетату Pd(II) (217 мг, 0,97 ммоль) та метил 2-бромацетату (1,88 мл, 19,36 ммоль) та реакційну суміш перемішували при 110 °C впродовж ще 20 год. Цю суміш охолоджували до кімнатної температури, розводили за допомогою ДХМ (100 мл), фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (EtOAc-гептан, 0-35 %) з одержанням заголовної сполуки (2,170 г, 35 %) у вигляді в'язкого масла. РХМС: $R_t=1,26$ хвил., $m/z=649,3$ (M+1), Метод 2m_acidic.

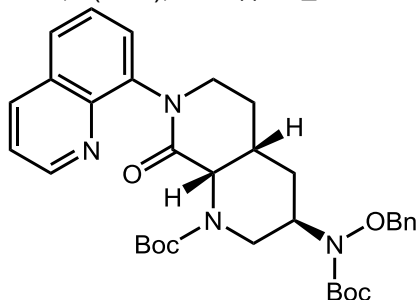


Стадія 5: трет-Бутил (2S, 3S, 5R)-5-((бензилокси)(трет-бутоксикарбоніл)аміно)-3-(2-гідроксиетил)-2-(хінолін-8-ілкарбамоїл)піперидин-1-карбоксилат. До розчину трет-бутил (2S, 3S, 5R)-5-((бензилокси)(трет-бутоксикарбоніл)аміно)-3-(2-метокси-2-оксоетил)-2-(хінолін-8-ілкарбамоїл)піперидин-1-карбоксилату (2,40 г, 3,70 ммоль) у ТГФ (60 мл) при 0 °C додавали супер-гідрид (1,0 М у ТГФ, 18,50 мл, 18,5 ммоль). Після перемішування при 0 °C впродовж 5 год. додавали AcOH (50 % водн., 10 мл), а потім насичений NH_4Cl (30 мл) та EtOAc (150 мл). Шари розділяли та органічний шар промивали сольовим розчином (50 мл), сушили над Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (EtOAc-гептан, 10-60 %) з одержанням заголовної сполуки (680 мг, 30 %). РХМС: $R_t=1,16$ хвил., $m/z=621,1$ (M+1), Метод 2m_acidic.

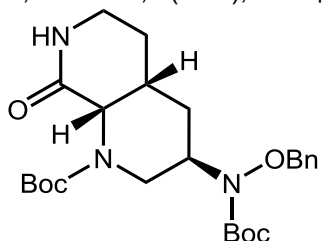


Стадія 6: трет-Бутил (2S, 3S, 5R)-5-((бензилокси)(трет-бутоксикарбоніл)аміно)-3-(2-

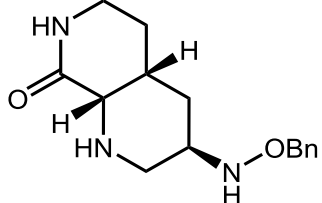
((метилсульфоніл)окси)етил)-2-(хінолін-8-ілкарбамоїл)піперидин-1-карбоксилат. До розчину трет-бутил (2S, 3S, 5R)-5-((бензилокси)(трет-бутоксикарбоніл)аміно)-3-(2-гідроксиетил)-2-(хінолін-8-ілкарбамоїл)піперидин-1-карбоксилату (680 мг, 1,10 ммоль) у дихлорметані (20 мл) при 0 °C додавали триетиламін (0,30 мл, 2,19 ммоль) та метилсульфонілхлорид (0,17 мл, 2,19 ммоль). Після перемішування впродовж 20 год. при кт цю суміш розводили водою (20 мл) та EtOAc (100 мл) та перемішували впродовж ще 15 хвилин, після цього шари розділяли. Органічний шар промивали за допомогою NaH_2PO_4 (1,0 М, 2 × 40 мл), сольовим розчином (30 мл), сушили над Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували у вакуумі, що забезпечувало одержання заголовної сполуки (кількісний вихід) у вигляді м'якої речовини. РХМС: $R_t=1,22$ хвил., $m/z=699,4$ (M+1), Метод 2m_acidic.



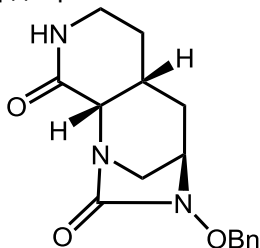
Стадія 7: трет-Бутил (3R, 4aR, 8aS)-3-((бензилокси)(трет-бутоксикарбоніл)аміно)-8-оксо-7-(хінолін-8-іл)октагідро-1,7-нафтиридин-1(2H)-карбоксилат. До розчину трет-бутил (2S, 3S, 5R)-5-((бензилокси)(трет-бутоксикарбоніл)аміно)-3-(2-((метилсульфоніл)окси)етил)-2-(хінолін-8-ілкарбамоїл)піперидин-1-карбоксилату (690 мг, 0,99 ммоль) у ТГФ (16 мл) при 0 °C додавали LDA (1,0 М у ТГФ/гексан, 1,97 мл). Після перемішування при 0 °C впродовж 2,5 год., суміш нагрівали до кімнатної температури та перемішували впродовж ночі. Додавали насичений NH_4Cl (20 мл) розчин та цю суміш екстрагували за допомогою EtOAc (80 мл). Органічний шар промивали сольовим розчином (20 мл), сушили над Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (EtOAc-гептан, 30-80 %) з одержанням заголовної сполуки (680 мг, 45 %) у вигляді м'якої речовини. РХМС: $R_t=1,03$ хвил., $m/z=603,4$ (M+1), Метод 2m_acidic.



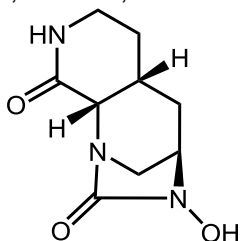
Стадія 8: трет-Бутил (3R, 4aR, 8aS)-3-((бензилокси)(трет-бутоксикарбоніл)аміно)-8-оксооктагідро-1,7-нафтиридин-1(2H)-карбоксилат. Розчин трет-бутил (3R, 4aR, 8aS)-3-((бензилокси)(трет-бутоксикарбоніл)аміно)-8-оксо-7-(хінолін-8-іл)октагідро-1,7-нафтиридин-1(2H)-карбоксилату (270 мг, 0,448 ммоль) у сухому ДХМ (15 мл) при -78 °C барботували O_3 до появи стійкого синього кольору, після цього барботувальну лінію прибирали. Після перемішування при -78 °C впродовж 45 хвил., синій колір зникав та суміш знову барботували O_3 до появи стійкого синього кольору. Через 15 хвилин перемішування систему барботували O_2 , поки суміш не стане безбарвною. До розчину додавали диметилсульфід (100 мкл, 1,36 ммоль). Після перемішування при кімнатній температурі впродовж 1 год., цю суміш концентрували у вакуумі. Залишок знову розчиняли у ТГФ (5 мл) та додавали NH_4OH (25 % водн., 5 мл). Після перемішування впродовж 16 годин, цю суміш розводили за допомогою EtOAc (50 мл) та органічний шар промивали водою (20 мл), сольовим розчином (20 мл), сушили над Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (EtOAc-гептан, 70-100 %) з одержанням заголовної сполуки (96 мг, 45 %) у вигляді твердої речовини. РХМС: $R_t=1,00$ хвил., $m/z=476,2$ (M+1), Метод 2m_acidic.



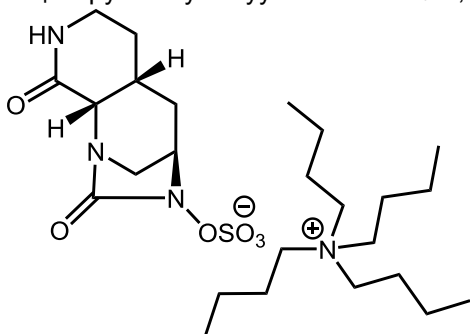
Стадія 9: (3R, 4aR, 8aS)-3-((бензилокси)аміно)октагідро-1,7-нафтиридин-8(2H)-он. До розчину трет-бутил (3R, 4aR, 8aS)-3-((бензилокси)(трет-бутоксикарбоніл)аміно)-8-оксооктагідро-1,7-нафтиридин-1(2H)-карбоксилату (120 мг, 0,252 ммоль) у ДХМ (3 мл) при 0 °С повільно додавали ТФОК (1,5 мл). Через 3 год. при 0 °С, потім при кімнатній температурі впродовж 1 год., суміш концентрували у вакуумі (температура бані <30 °С). Залишок переносили у ДХМ:EtOH (5:1, 30 мл) та додавали Na₂CO₃ (2 М, 10 мл). Шари розділяли та водний шар екстрагували за допомогою ДХМ:EtOH (5:1, 2 × 30 мл). Об'єднані органічні шари сушили над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (MeOH-ДХМ, 10-25 %) з одержанням заголовної сполуки (60 мг, 86 %) у вигляді твердої речовини. РХМС: R_t=0,58 хвил., m/z=276,1 (M+1), Метод 2m_acidic.



Стадія 10: (4R, 5aR, 9aS)-3-(бензилокси)гексагідро-1,4-метано-піридо[3,4-d][1,3]діазепін-2,9(3H, 6H)-діон. До розчину (3R, 4aR, 8aS)-3-((бензилокси)аміно)октагідро-1,7-нафтиридин-8(2H)-ону (56 мг, 0,20 ммоль) у ACN (21 мл) при 0 °С у атмосфері N₂ додавали DIPEA (140 мкл, 0,81 ммоль). Розчин трифосгену (24 мг, 0,08 ммоль) у ACN (3 мл) додавали через шприцевий насос (0,1 мл/хвил.). Після перемішування при 0 °С впродовж 6 год. суміш частково концентрували (~10 мл) у вакуумі, розводили за допомогою ДХМ (40 мл), промивали водою (20 мл), сольовим розчином (20 мл), сушили над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (MeOH-ДХМ, 0-5 %) з одержанням заголовної сполуки (50 мг, 82 %) у вигляді брудно-білої твердої речовини. РХМС: R_t=0,65 хвил., m/z=302,0 (M+1), Метод 2m_acidic.

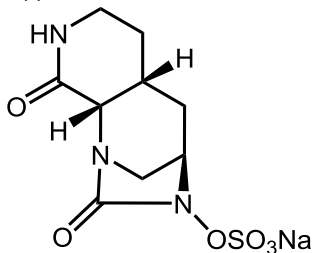


Стадія 11: (4R, 5aR, 9aS)-3-гідроксигексагідро-1,4-метанопіридо[3,4-d][1,3]діазепін-2,9(3H, 6H)-діон. Суспензію (4R, 5aR, 9aS)-3-(бензилокси)гексагідро-1,4-метанопіридо[3,4-d][1,3]діазепін-2,9(3H, 6H)-діону (50 мг, 0,17 ммоль) та Pd-C (10 % Дегусса типу 101, 50 % вода, 27 мг) у MeOH:ДХМ (3:1, 4 мл) відкачували та знову заповнювали H₂. Через 2 год. енергійного перемішування, цю суміш фільтрували через фільтр з целіту, промивали за допомогою MeOH, та концентрували у вакуумі. РХМС: R_t=0,20 хвил., m/z=212,0 (M+1) Метод 2m_acidic.



Стадія 12: Тетрабутиламонію (4R, 5aR, 9aS)-2,9-діоксооктагідро-1,4-метанопіридо[3,4-d][1,3]діазепін-3(2H)-іл сульфат. До суспензії сирого (4R, 5aR, 9aS)-3-гідроксигексагідро-1,4-метанопіридо[3,4-d][1,3]діазепін-2,9(3H, 6H)-діону (35 мг, 0,17 ммоль) у піридині (3 мл) при 0 °С додавали SO₃•Py (132 мг, 0,83 ммоль). Після інтенсивного перемішування при кт впродовж 20 год., суспензію фільтрували та тверду речовину промивали холодним ДХМ (5 мл). Фільтрат концентрували у вакуумі (температура бані <30 °С) та сирий залишок розчиняли у NaH₂PO₄ (1 М, 10 мл), після цього додавали гідросульфат тетрабутиламонію (84 мг, 0,25 ммоль). Через 30

хвил. суміш екстрагували за допомогою CHCl_3 :IPA (4:1, 3 × 30 мл). Об'єднані органічні шари сушили над Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (MeOH-ДХМ, 5-20 %) з одержанням заголовної сполуки у вигляді білої піни. РХМС: $R_f=0,15$ хвил., $m/z=292,0$ (M+1), Метод 2m_acidic.

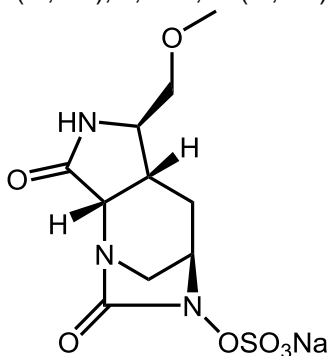


5

Стадія 13: Натрію (4R, 5aR, 9aS)-2,9-діоксооктагідро-1,4-метанопіrido[3,4-d][1,3]діазепін-3(2H)-ілу гідросульфат. DOWEX 50Wx8 водневу форму 200-400 меш кондиціювали шляхом перемішування з NaOH (2 н.) впродовж 2 год. Іонообмінну смолу завантажували у скляну колонку та промивали водою (до pH ≈ 6), а потім сумішшю вода:ацетон (1:1). Тетрабутиламонію (4R, 5aR, 9aS)-2,9-діоксооктагідро-1,4-метанопіrido[3,4-d][1,3]діазепін-3(2H)-іл сульфат (228 мг, 0,408 ммоль) у суміші ацетон:вода (1:1) завантажували та пропускали через колонку, елюючи водою (20 мл), потім сумішшю ацетон:вода (1:4, 30 мл). Зразок ліофілізували з одержанням заголовної сполуки (28 мг, 52 %) у вигляді білої твердої речовини. РХМС: $R_f=0,29$ хвил., $m/z=291,8$ (M+1) Метод T3_3m_polar; ^1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ 4,31(m, 1H), 4,09(d, J=7,1 Гц, 1H), 3,55(td, J=12,8, 4,3 Гц, 1H), 3,26-3,34(m, 2H), 2,87(d, J=12,3 Гц, 1H), 2,55-2,64(m, 1H), 2,21-2,30(m, 1H), 1,99-2,09(m, 1H), 1,80-1,88(m, 1H), 1,72-1,79(m, 1H).

10

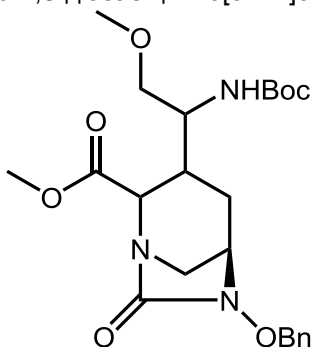
15



Приклад 8. Натрію (4R, 5aS, 6R, 8aS)-6-(метоксиметил)-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-ілу гідросульфат

20

Стадія 1: Метил (5R)-6-(бензилокси)-3-(1-((трет-бутоксикарбоніл)-аміно)-2-метоксиетил)-7-оксо-1,6-діазабіцикло[3.2.1]октан-2-карбоксилат (суміш діастереоізомерів).



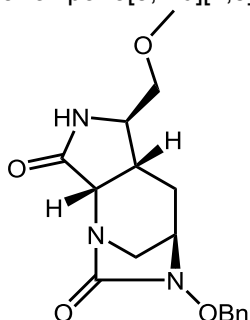
25

Проміжну сполуку С (1,10 г, 3,82 ммоль), Boc-L-Ser(OMe) -OH (1,04 г, 4,58 ммоль) та $\text{Ir}[\text{df}(\text{CF}_3)\text{ppy}_2(\text{dtbpy})]\text{PF}_6$ (43 мг, 0,04 ммоль) розчиняли у ДМФА (16 мл). До цього розчину додавали тонко подрібнений двоосновний фосфат калію (0,62 г, 4,58 ммоль) та отриману суспензію перемішували та опромінювали впродовж 12 днів за допомогою лампи Kessil H150-Blue на відстані ≤ 2 см. Через 3 та через 9 днів $\text{Ir}[\text{df}(\text{CF}_3)\text{ppy}_2(\text{dtbpy})]\text{PF}_6$ (43 мг, 0,04 ммоль) додавали (всього 3 моль% каталізатор). До реакційної суміші додавали воду (15 мл), а потім насичений NaHCO_3 (водн., 15 мл), який потім екстрагували за допомогою TBME (3 × 60 мл). Об'єднані органічні фази промивали сольовим розчином (10 мл), сушили над Na_2SO_4 та концентрували у вакуумі, що приводило до одержання заголовної сполуки (1,85 г) у вигляді жовтого масла, яке складається з 4 діастереоізомерів (співвідношення 39:16:11:34). РХМС:

30

$R_t=1,02$ хвил., $1,05$ хвил., $1,08$ хвил., $1,12$ хвил. усі з $m/z=464$ ($M+1$), PXMC_2 MIN_REACTION_MONITORING.

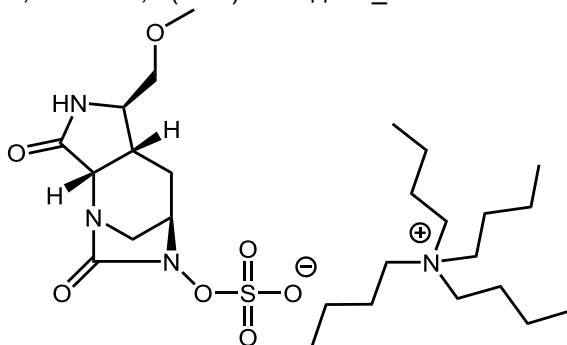
Стадія 2: (4R, 5aS, 6R, 8aS)-3-(бензилокси)-6-(метоксиметил)гексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(3H)-діон.



5

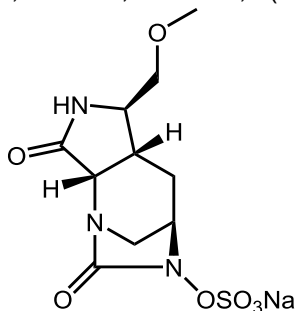
До розчину метил (5R)-6-(бензилокси)-3-(1-((трет-бутоксикарбоніл)аміно)-2-метоксиетил)-7-оксо-1,6-діазабіцикло[3.2.1]октан-2-карбоксилату (1,85 г, 4,0 ммоль) у ДХМ (60 мл) при 0°C додавали ТФОК (15,4 мл, 200 ммоль), краплинним способом. Реакційну суміш перемішували при кт впродовж 1,5 год., потім концентрували у вакуумі. Сирий залишок розчиняли у ДХМ (60 мл), потім краплинним способом додавали триетиламін (11,1 мл, 80 ммоль). Реакційну суміш перемішували при кт впродовж ночі, після чого її концентрували до одержання червонуватого масла (6,8 г). Додавали воду (20 мл) та цю суміш екстрагували за допомогою ТВМЕ (3×80 мл). Об'єднані органічні фази сушили над Na_2SO_4 та концентрували у вакуумі з одержанням жовтого масла (1,13 г). Водну фазу насичували з NaCl (тв.) та додатково екстрагували за допомогою ДХМ (3×80 мл). Об'єднані органічні фази сушили над Na_2SO_4 та концентрували у вакуумі з одержанням додаткової кількості сирого продукту (0,95 г). Об'єднаний сирий продукт очищували шляхом ВЕРХ хроматографії (Sunfire-C18, 5мкм, 50×250 мм, вода/ACN+0.1 % ТФОК, 100 мл/хвил., 18-38 % впродовж 21 хвил., всього 35 хвил.), де рН фракцій доводили до 6,9 шляхом додавання насиченого NaHCO_3 (водн.) та ліофілізували з одержанням світло-коричневого залишку (0,59 г). Цей залишок розчиняли у суміші ACN/вода та очищували за допомогою C18 картриджу (ACN-вода), після чого ліофілізований матеріал забезпечував одержання заголовної сполуки (62 мг, 4,1 % 3-стадії). PXMC: $R_t=0,70$ хвил., $m/z=332$ ($M+1$), PXMC_2 MIN_REACTION_MONITORING.

Стадія 3: (4R, 5aS, 6R, 8aS)-3-гідрокси-6-(метоксиметил)гексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(8aH)-діон. (4R, 5aS, 6R, 8aS)-3-(бензилокси)-6-(метоксиметил)гексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(8aH)-діон (59 мг, 0,178 ммоль) розчиняли у MeOH:ДХМ (1:1, 1,78 мл). Цю суміш барботували азотом, додавали Pd-C (10 % Дегусса типу, 101, 50 % вода, 37,9 мг, 0,018 ммоль), потім залишали у атмосфері H_2 на 90 хвил. Цю суміш фільтрували через целіт, елюючи сумішшю ДХМ:MeOH (1:1) та концентрували у вакуумі з одержанням заголовної сполуки (49 мг, кількісний) у вигляді безбарвної твердої речовини. PX/MC: $R_t=0,12$ хвил.; $m/z=242,0$ ($M+1$) Метод 2m_acidic.



Стадія 4: тетрабутиламонію (4R, 5aS, 6R, 8aS)-6-(метоксиметил)-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат. До розчину (4R, 5aS, 6R, 8aS)-3-гідрокси-6-(метоксиметил)гексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-2,8(8aH)-діону (42 мг, 0,174 ммоль) у піридині (1,85 мл) додавали $\text{SO}_3 \cdot \text{піридин}$ (139 мг, 0,870 ммоль). Цю суміш перемішували впродовж 18 год., потім фільтрували через мембранний фільтр та концентрували у вакуумі (температура бані $< 30^\circ\text{C}$). Сирий залишок розчиняли у насиченому NaH_2PO_4 та промивали за допомогою EtOAc. Шари розділяли та до водної фази додавали гідросульфат тетрабутиламонію (89 мг, 0,261 ммоль). Цю суміш перемішували впродовж 30 хвилин, потім екстрагували за допомогою ДХМ, сушили над сульфатом натрію та концентрували у вакуумі.

Сирий залишок очищували шляхом силікагелевої хроматографії (MeOH-ДХМ, 0-30 %), що забезпечувало одержання заголовної сполуки (57 мг, 58 %) у вигляді безбарвної плівки. РХ/МС: $R_f=0,12$ хвил.; $m/z=322,0$ ($M+1$) Метод 2m_acidic.



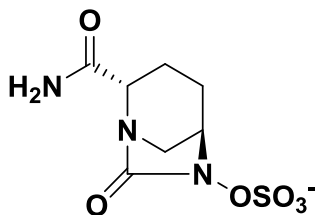
5 Стадія 5: Натрію (4R, 5aS, 6R, 8aS)-6-(метоксиметил)-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл гідросульфат. DOWEX 50Wx8 водневу форму 200-400 меш перемішували з NaOH (2 н.) впродовж 3 годин, потім завантажували у колонку та промивали водою до встановлення рН елюенту ~6, що супроводжували промиванням сумішшю вода-ацетон (1:1). Тетрабутиламонію (4R, 5aS, 6R, 8aS)-6-(метоксиметил)-2,8-діоксогексагідро-2H-1,4-метанопіроло[3,4-d][1,3]діазепін-3(4H)-іл сульфат (57 мг, 0,101 ммоль) розчиняли у суміші ацетон-вода (1:1) та пропускали через колонку, елюючи сумішшю 1:1 ацетон/вода. Фракції концентрували у вакуумі та ліофілізували з одержанням бажаного продукту (27 мг, 70 %) у вигляді безбарвного порошку. РХ/МС: $R_f=0,41$ хвил.; $m/z=321,9$ ($M+1$) Метод T3_3m_polar; ^1H ЯМР (500МГц, D_2O) $\delta = 4,30$ (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 4,24 (br s, 1H), 3,60-3,56 (m, 1H), 3,56-3,45 (m, 3H), 3,39 (s, 3H), 3,38-3,34 (m, 1H), 2,97 (d, $J=12,3$ Гц, 1H), 2,67 (q, $J=8,4$ Гц, 1H), 2,64-2,56 (m, 1H), 1,72 (dd, $J=14,7, 8,4$ Гц, 1H).

Тест на чутливість

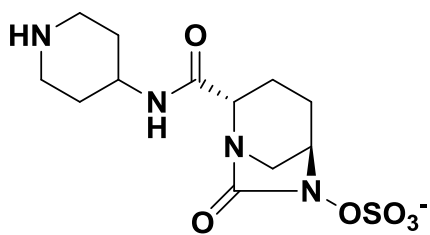
МІС визначали за допомогою методу мікророзведення у бульйоні у відповідності з настановами Інституту клінічних та лабораторних стандартів (CLSI). Коротко, свіжі культури бактерій суспендували у стерильному сольовому розчині впродовж ночі, та доводили до 0,5 стандарту мутності МакФарланда. Суспензії бактерій потім розводили у катіонному модифікованому середовищі Мюлера-Хінтона (MHB II; BBL) з одержанням кінцевого інкуляту приблизно 5×10^5 колоніє-утворюючих одиниць (КУО)/мл. Контрольний планшет антибіотиків одержували при концентрації, яка дорівнює сто-кратній найвищій бажаній концентрації у 100 % диметилсульфоксиді (ДМСО). Контрольний планшет антибіотиків потім розводили шляхом серійного дворазового розведення багатоканальною піпеткою. Отримані серійні розведення сполук розводили 1:10 стерильною водою або розчином інгібітору бета-лактамази, отриманим при концентрації, яка дорівнює одинадцяти-кратній бажаній кінцевій концентрації у деіонізованій воді, що приводило до одержання 10 % ДМСО кінцевої концентрації. Об'єм 10 мкл розчину серійного розведення лікарського засобу переносили у 96-лункові дослідні планшети. Дослідні планшети інкулювали з 90 мкл суспензій бактерій та інкубували при 35 °C впродовж 20 год. Дослідні планшети читували, використовуючи рідер для мікротитраційних планшетів (Molecular Devices) при 600 нм, а також шляхом візуального спостереження за допомогою дзеркального пристрою з інвертованою оптикою. Найнижчу концентрацію сполуки, яка візуально запобігала росту, записували як МІС. Перебіг дослідження контролювали шляхом тестування азтреонаму проти штамів лабораторного контролю якості у відповідності з настановами CLSI.

Наступні інгібітори бета-лактамази та бета-лактамні антибіотики перераховані у наступних таблицях:

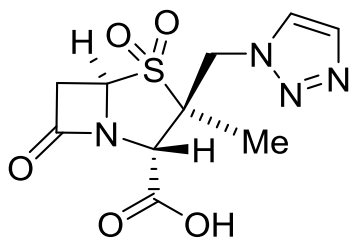
Інгібітор бета-лактамази 1: Авібактам



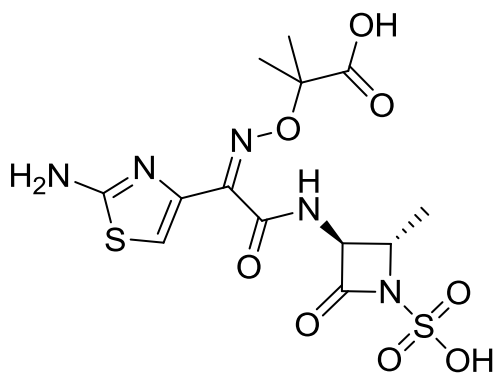
Інгібітор бета-лактамази 2: Релебактам



Інгібітор бета-лактамази 3: Тазобактам

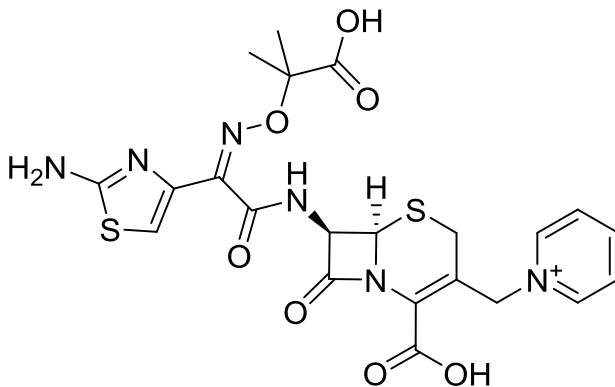


Бета-лактам 1: Азтреонам

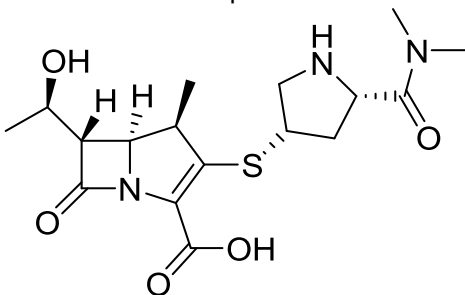


5

Бета-лактам 2: Цефтазидим

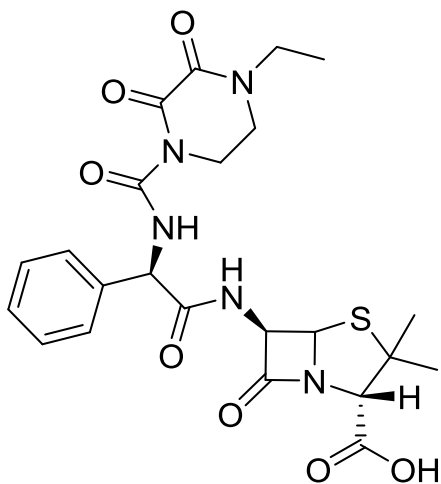


Бета-лактам 3: Меропенем

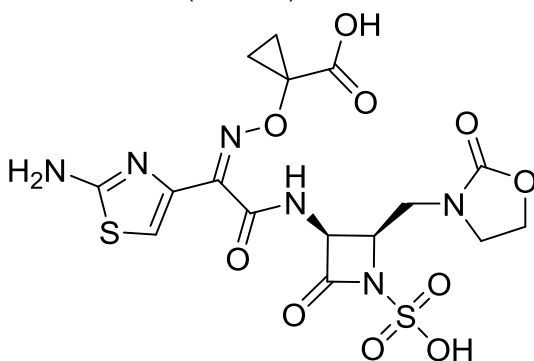


10

Бета-лактам 4: Піперацилін



Бета-лактамаз 5 (LYS228):



Синергія з бета-лактамами шляхом інгібування бета-лактамаз

5 Синергію або потенціювання бета-лактамних антибіотиків шляхом інгібування β -лактамаз оцінювали проти ізогенної панелі штамів *E. coli*, кожен з яких експресує унікальну бета-лактамазу, та проти клінічних штамів.

Конструювання ізогенних штамів *E. coli* NB27273-CDY0026 (батьківський), NB27273-CDY0033 (KPC-2), NB27273-CDY0030 (SHV-12), NB27273-CDY0034 (CTX-M-15) та NB27273-CDY0036 (AmpC).

10 Штам NB27273 (BW25113 *pspB*:Km^r) одержали з колекції вставок транспозонів Кейо. Цей штам має *pspB* ген, замінений маркером резистентності до канаміцину (BW25113 *pspB*:Km^r). Цей штам був оброблений транспозоном у *pspB* за допомогою FLP рекомбінази, використовуючи опубліковану у літературі методику. Отриманий штам, BW25113 *pspB*, використовували як хазяїна для мультикопійних векторів, що експресують ключові бета-лактамази. Мультикопійні плазміди, що направляють конститутивну експресію бета-лактамаз, були сформовані наступним чином. Синтетичні оптимізовані кодоном гени, що кодують *E. coli* KPC-2, SHV-12 та CTX-M-15 бета-лактамази, були вироблені DNA2.0 (Palo Alto, CA). Кожен з синтетичних фрагментів конструювали таким чином, щоб він містив на своїх кінцях сайти рестрикції NotI та NcoI, що дозволяють здійснювати лігування у NotI/NcoI розщеплений рET28a(+) похідний для експресії білку. Вставки у цих векторах слугували як матрична ДНК для ПЛР-ампліфікація гену, що кодує KPC-2, SHV-12 та CTX-M-15, використовуючи пари праймерів E225 (tcgcCTCGAGgcgactgcgctgacgaatttg) (SEQ ID NO:1) та E202 (aatcGAATTCtactgaccattaacgccaagc) (SEQ ID NO:2) та E227 (tcgcCTCGAGgcgagcccgcaaccgctgga) (SEQ ID NO:3) та E204 (aatcGAATTCttaacgctgccagtgtctcaatc) (SEQ ID NO:4) та E226 (cgctctcgagagcgctcccgctgtacgcacaaacg) (SEQ ID NO:5) та E203, (aatcgaattcttacagaccgtcggtgacaatc) (SEQ ID NO:6), відповідно. Оптимізовані кодоном нуклеотидні послідовності та відповідна інформація щодо розпізнавання праймерів наведені нижче:

KPC-2

ATGGGCCATCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGAAGTTCTGTTCCAGGGGCCCCGCGACTGCGCT
GA
CGAATTTGGTGGCCGAGCCGTTTCGCGAAATTGGAGCAAGATTTTGGTGGTTCGATCGGTGTCTACGCG
AT
GGACACCGGTAGCGGTGCCACCGTGAGCTACCGTGCCGAAGAGCGTTTTCCGCTGTGTAGCTCTTTCA
AG
GGTTTTCTGGCCGAGCCGTGCTGGCACGCAGCCAACAGCAAGCGGGCCTGCTGGACACCCCGATCCG
TT
ACGGCAAAAATGCGCTGGTTCGTTGGAGCCCGATTAGCGAAAAGTACCTGACCACCGGCATGACGGTG
GC
GGAGTTGAGCGCTGCGGCGGTTTCACTATTCCGATAACGCTGCGGCAAATCTGCTGCTGAAAGAACTGG
GC
GGTCCAGCGGGTCTGACGGCTTTTCATGCGTTCTATTGGCGACACCACCTTTTCGCTTGGACCGCTGGGA
GC
TGGAGCTGAACAGCGCGATTCCGGGCGACGCACGTGATACGAGCAGCCCGCGTGCAGTGACCGAGAGC
CT
GCAGAAGCTGACCCTGGGCAGCGCACTGGCCGCACCGCAGCGCCAACAGTTCGTGATTGGCTGAAGG
GT
AACACCACCGGTAACCATCGTATTTCGCGCAGCGGTCCCGGCTGATTGGGCAGTTGGTGACAAGACTGG
TA
CGTGCGGCGTTTATGGTACGGCGAATGACTACGCGGTTGTTTGGCCTACGGGTCGTGCGCCGATCGTC
CT
GGCGGTGTATACCCGTGCTCCGAACAAAGACGATAAACTCCGAAGCGGTCATCGCCGCAGCAGCGC
GT
CTGGCCCTGGAAGGCTTGGGCGTTAATGGTCAGTAACGCCGGCG (SEQ ID NO:7)
 E225 TCGCCTCGAGGCGACTGCGCTGACGAATTTGG (SEQ ID NO:8)
 E202 AATCGAATTCTTACTGACCATTAAACGCCCAAGC (SEQ ID NO:9)
 REV. COMP. E202 GCTTGGGCGTTAATGGTCAGTAAGAATTCGATT (SEQ ID
 NO:10)

ПІДКРЕСЛЕНІ = DNA ENCODING BL

SHV-12

ATGGGCCATCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGAAGTTCTGTTCCAGGGGCCCCGCGAGC
CCGCAACCGCTGGAGCAGATCAAGCAGTCTGAGAGCCAGCTGAGCGGCCGTGTGGGTATGATCGAGAT
GGATCTGGCTTCCGGCCGTACGCTGACGGCATGGCGTGCCGACGAACGTTTCCCGATGATGTCGACCT
TTAAAGTTGTTCTGTGTGGTGCAGTCTTGGCACGTGTAGACGCGGGTGACGAACAACCTGGAGCGCAAG
ATCCATTACCGCCAACAGGACTTGGTCGACTACAGCCCGGTTAGCGAAAAGCACCTGGCGGATGGCAT
GACCGTGGGTGAATTGTGCGCCGCTGCGATTACCATGAGCGACAATAGCGCGGCTAATCTGCTGTTGG
CGACCGTTGGTGGCCAGCGGGCTTGACCGCATTTCTGCGTCAAATCGGCGATAATGTTACGCGTCTG
GATCGCTGGGAAACGGAGCTGAACGAGGCACTGCCGGGTGATGCCCGTGATACCACGACTCCTGCTAG
CATGGCAGCGACCGCTGCGTAAACTGCTGACCAGCCAGCGTCTGAGCGCACGTAGCCAACGCCAGCTGC
TGCAATGGATGGTGGATGACCGCGTGGCGGGTCCGCTGATCCGCTCCGTCTGCCAGCAGGCTGGTTC
ATTGCGGACAAAACCTGGTGCCTCTAAGCGTGGTGCAGTGGTATCGTCGCGCTGCTGGGTCCGAACAA
CAAAGCCGAACGTATTGTGGTTATCTATCTGCGCGACACCCCGCAAGCATGGCCGAGCGCAACCAGC
AAATTGCGGGCATTGGTGCGGCACTGATTGAGCACTGGCAGCGTTAACGCCGGCG (SEQ ID
 NO:11)

E227 TCGCCTCGAGGCGAGCCCGCAACCGCTGGA (SEQ ID NO:12)

E204 AATCGAATTCCTTAACGCTGCCAGTGCTCAATC (SEQ ID NO:13)

REV. COMP. E204 GATTGAGCACTGGCAGCGTTAAGAATTCGATT (SEQ ID

NO:14)

CTX-M-15

ATGGGCCATCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGAAGTTCTGTTCCAGGGGCCCCAGCGTC
CCGCTGTACGCACAAACGGCCGACGTGCAACAGAACTGGCGGAGTTGGAACGTCAGAGCGGTGGCCG
TTTGGGTGTAGCCCTGATCAATACCGCGGACAATAGCCAAATCTGTATCGTGCGGACGAACGCTTCG
CGATGTGCAGCACGAGCAAGGTGATGGCCGCTGCGGCCGTTCTGAAGAAATCCGAGAGCGAGCCGAAC
TTGCTGAATCAGCGCGTTGAGATCAAGAAGTCGGATCTGGTGAACATAACCCTATCGCGGAAAAACA
TGTCAACGGCACCATGTCCCTGGCAGAGCTGAGCGCGGCTGCGTTGCAGTACTCTGATAACGTCGCAA
TGAATAAACTGATCGCACACGTCGGTGGCCAGCAAGCGTGACCGCCTTTGCGCGTCAACTGGGCGAT
GAAACTTTTCTGCTGTGGATCGTACCGAACCGACCCTGAATACGGCAATTCCGGGTGATCCGCGCGACAC
GACGAGCCCGCGTGCAATGGCACAGACCCTGCGCAACCTGACCCTGGGTAAAGCGCTGGGCGATAGCC
AACGTGCGCAGCTGGTTACGTGGATGAAGGGTAACACCACCGGTGCGGCCAGCATTCAAGCGGGCCTG
CCGGCCAGCTGGGTTGTTGGTGATAAAACTGGCTCCGGTGGTTATGGTACCACGAATGACATCGCGGT
TATTTGGCCGAAGGACCGTGCGCCGTTGATCCTGGTGACCTACTTCACCCAGCCGCAGCCGAAAGCTG
AGTCTCGCCGTGACGTGCTGGCGAGCGCAGCTAAGATTGTCACCGACGGTCTGTAACGCCGGCG
 E226 cgetCTCGAGagcggtcccgctgtacgcacaaacg (SEQ ID NO:15)
 E203, aatcGAATTCttacagaccgtcggtgacaatc (SEQ ID NO:16)

- 5 Ген, що кодує Amp^R, був ПЛР-ампліфікований з геному штаму *P. aeruginosa* PAO1 (NB52019) (GenBank ID U5R279), використовуючи пару праймерів E252 (gccctcgagggcgaggccccggcgatcgc) (SEQ ID NO: 17) та E253 (tgagaattctcagcgcttcagcggsacct) (SEQ ID NO: 18).

- 10 Продукти ПЛР потім розщеплювали за допомогою XhoI та EcoRI та лігували у розщеплену аналогічним чином плазмиду рАН63-pstS(Bla^R). Плазміда рАН63-pstS(Bla^R) є похідною плазмиди рАН63 (J Bacteriol.183(21): 6384–6393), отриманою шляхом клонування TEM-1 (bla) промотору та сигнального пептиду, що кодує область з плазмиди рBAD (J Bacteriol. 1995 Jul. 177(14):4121-30) у плазмиду рАН63. Цей фрагмент був ПЛР- ампліфікований з рBAD, використовуючи пару праймерів E192 (ttcaCTGCAGtgaacgttgcaagcaacggc) (SEQ ID NO:19) та E194 (TCGAggatcctcagagcaaaaacaggaaggcaaatgccc) (SEQ ID NO:20), розщеплених за допомогою PstI та BamHI та вставлених аналогічним чином у розщеплену плазмиду рАН63. Таким чином,
- 15 експресія бета-лактамаз з основаних на рАН63-pstS(Bla^R) конструкціях є конститутивною та

отримують сигнальну послідовність, яка направляє ці білки у періплазму. Вектори на основі плазмиди рАН63 використовуються для вставки у геном у одній копії, однак, для того щоб забезпечити більш високі рівні експресії для більш чутливого детектування сприйнятливості сполук до бета-лактамаз, що експресують вставки, які містяться у цих векторах, переміщали у реплікативний мультикопійний вектор рBAD-Kan (J Bacteriol. 1995 Jul. 177(14):4121-30). Для досягнення цієї мети, вставки, що включають гени бета-лактамаз, з асоційованим промотором TEM та сигнальними послідовностями ПЛР-ампліфікували з їх відповідних векторів, використовуючи праймер E268 (ccgTCTAGAcggatggccttttgcgtttc) (SEQ ID NO:21) та E202 (aatcGAATTCttactgaccattaacgcccaagc) (SEQ ID NO:22) для KPC2 конструкції, E204 (aatcGAATTCttaacgctgccagtgctcaatc) (SEQ ID NO:23) для SHV-12 конструкції та E203 (aatcgaattcttacagaccgtcggtgacaatc) (SEQ ID NO:24) для CTX-M-15 конструкції. Ці фрагменти потім розщепляли за допомогою XbaI та EcoRI, та кожен вставляли у рBAD18-kan, який був розщеплений за допомогою тих же ферментів з формуванням пари мультикопійних векторів, що експресують KPC-2, SHV-12 та CTX-M-15, відповідно. Ці вектори були трансформовані у BW25113 pspB для утворення штамів NB27273-CDY0033 (що експресують KPC-2), NB27273-CDY0030 (що експресують SHV-12), NB27273-CDY0034 (що експресують CTX-M-15) та NB27273-CDY0036 (що експресують AmpC). Вектор рBAD18-kan також містить область TEM промотору та сигнальну послідовність (але не має ніяких інтактних генів бета-лактамаз), та його трансформували у BW25113 pspB, використовуючи стандартний протокол для створення контрольного штаму NB27273-CDY0026. Експресію бета-лактамаз підтверджували шляхом перевірки зниження сприйнятливості до тестуємих у прикладах антибіотиків, які є відомими субстратами KPC-2, SHV-12, CTX-M-15 або AmpC.

Конструювання ізогенних штамів E. coli, NB27273-CDY0105 (OXA-18) та NB27273-CDY0048 (TEM-10). Плазмідний вектор для експресії OXA-18, конструювали наступним чином: Гени, що кодують GIM-1 (GenBank ID Q704V1) та OXA-18 (GenBank ID O07293) були синтезовані компанією Life Technologies з 5'-tgccttcctgttttgcctctcgag та gaattcgctagcccaaaaaaacgg-3" (SEQ ID NO:25) фланкуючими послідовностями. GIM-1 кодуючий фрагмент розщеплювали за допомогою XhoI та EcoRI та вставляли у KPC-2 експресійну конструкцію, описану вище, з якої KPC-2 кодуючий ген видаляли шляхом розщеплення за допомогою XhoI та EcoRI. Підтверджуюче секвенування нуклеїнової кислоти виявило XhoI сайт у основі вектору, який був потім видалений шляхом сайт-специфічного мутагенезу, використовуючи пару праймерів E396 (cgtctgtccaggccgcgattaaattcc) (SEQ ID NO:26) та E397 (tcgcggcctggagcaagacgtttc) (SEQ ID NO:27). Ген, що кодує OXA-18, потім розщеплювали за допомогою XhoI та EcoRI та вставляли у цей вектор, з якого ген для GIM-1 був видалений за допомогою XhoI та EcoRI.

Для створення вектору, що експресує TEM-10, плазмиду рBAD18 (J Bacteriol. 1995 Jul. 177(14):4121-30), що містить ген, який кодує TEM-1, використовували як матрицю для сайт-специфічного мутагенезу на основі ПЛР для перетворення гену, що кодує TEM-1, у ген, що кодує TEM-10. З цієї матричної ДНК три фрагменти створювали шляхом ПЛР, використовуючи наступні пари праймерів;

B124 (tcacgtagcgcgcgag) (SEQ ID NO:28) та E387 (tggagccggtaacgctgggtctcgcggt) (SEQ ID NO:28) для створення фрагменту А, що кодує E237K заміну

E389 (cgcgagaccacgcttaccggctccaga) (SEQ ID NO:29) та E391 (ctcgccttgatagttgggaaccgga) (SEQ ID NO:30) для створення фрагменту В, що кодує E237K та R162S заміни

E393 (cgggtcccaactatcaaggcgagt) (SEQ ID NO:31) та E289 (gacattgccgtcactgcgtct) SEQ ID NO:32) для створення фрагменту С, що також вводить R162 заміну.

Фрагменти А, В та С потім використовували як матрицю для створення повного гену, що кодує TEM-10, наступним чином:

Фрагменти А та В використовували як матрицю для ПЛР, використовуючи праймери B124 (tcacgtagcgcgcgag) (SEQ ID NO:33) та E390 (gtaactgccttgatagttgggaaccggagctgaatgaagc) (SEQ ID NO:34) для об'єднання фрагментів А та В у фрагмент D

Фрагменти В та С використовували як матрицю для ПЛР, використовуючи праймери E290 (gcgggaccaaagccatgaca) (SEQ ID NO:35) та E388 (accgcgagaccacgcttaccggctccagattatcagcaataaac) (SEQ ID NO:36) для об'єднання фрагментів В та С у фрагмент E

Нарешті, фрагменти D та E використовували як матрицю для ПЛР, використовуючи праймери E395 (gtaagaattcttaccatgctaatcagtgaggc) (SEQ ID NO:37) E268 (ccgtctagacggatggccttttgcgtttc) (SEQ ID NO:38) для об'єднання фрагментів D та E у інтектний TEM-10 кодуючий продукт. Цей фрагмент потім розщеплювали за допомогою XbaI та EcoRI та вставляли у рBAD-kan, який також різали тими ж ферментами.

Ці кінцеві вектори для експресії OXA-18 та TEM-10 трансформували у BW25113 pspB для

створення штамів NB27273-CDY0105 (що експресує OXA-18) та NB27273-CDY0048 (що експресує TEM-10). Експресію бета-лактамаз підтверджували шляхом перевірки зниження сприйнятливості до тестуємих у прикладах антибіотиків, які є відомими субстратами OXA-18 або TEM-10.

5

Таблиця А

Мінімальні інгібуючі концентрації (MIC) у мкг/мл вибраних BLI

BLI	E. coli ATCC 25922	K. pneumoniae ATCC 43816	P. aeruginosa ATCC 27853
Авібактам	16	32	>64
Релебактам	>64	>64	>64
Приклад 1	>64	>64	>64
Приклад 2	>64	>64	>64
Приклад 3	>64	>64	>64
Приклад 4	>64	>64	>64
Приклад 5	>64	>64	>64
Приклад 6	>64	>64	>64
Приклад 7	>64	>64	>64
Приклад 8	>64	>64	>64

У Таблиці 1 вище показано, що у той час як деякі інгібітори бета-лактамази, такі як авібактам, показують пряму антибактеріальну активність, сполуки Формули (А) показують невелику пряму активність.

- 10 Наступні дані показують ефект потенціювання або синергетичну активність сполук даного винаходу, як проілюстровано за допомогою сполуки Прикладу 1, при використанні у комбінації з різними бета-лактамними антибіотиками. Так як сполука Прикладу 1 не показує великої прямої антибіотичної активності (дивись Таблицю 1), синергію або потенціювання визначають у цьому описі як чотириразове або більше зниження у MIC бета-лактамного антибіотика, спричинене
- 15 присутністю сполуки Формули (А), у порівнянні з використанням тільки бета-лактамного антибіотика. Переважно, комбінації даного винаходу показують щонайменше 8-кратне зниження у MIC у порівнянні з використанням тільки бета-лактамного антибіотика.

Потенціювання активності (MIC у мкг/мл) азтреонаму за допомогою інгібіторів бета-лактамази у ізогенних штамх E. coli, що експресують окремі бета-лактамази.

АЗТРЕОНАМ (AZ)	E. coli (KPC-2)	E. coli (TEM-10)	E. coli (SHV-12)	E. coli (CTX-M-15)	E. coli (AmpC)	E. coli (OXA-18)
тільки AZ	64	64	>64	64	4	>64
AZ + Пр. 1 (2 мкг/мл)	0,125	0,125	0,25	≤0,06	0,125	1
AZ + Авібактам (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

Потенціювання активності (MIC у мкг/мл) цефтазидиму за допомогою інгібіторів бета-лактамази у ізогенних штамх E. coli, які експресують окремі бета-лактамази

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

Потенціювання активності (MIC у мкг/мл) меропенему за допомогою інгібіторів бета-лактамази у ізогенних штаммах *E. coli*, які експресують окремі бета-лактамази

МЕРОПЕНЕМ (Меро)	<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)
Тільки Меро	1	≤0,06	≤0,06	≤0,06	≤0,06	≤0,06
Меро + Пр. 1 (2 мкг/мл)	≤0,06	≤0,06	≤0,06	≤0,06	≤0,06	≤0,06
Меро + Авібактам (2 мкг/мл)	≤0,06	≤0,06	≤0,06	≤0,06	≤0,06	≤0,06
Меро + Релебактам (2 мкг/мл)	≤0,06	≤0,06	≤0,06	≤0,06	≤0,06	≤0,06

Потенціювання активності (MIC у мкг/мл) піперациліну за допомогою інгібіторів бета-лактамази у ізогенних штаммах *E. coli*, які експресують окремі бета-лактамази.

Піперацилін (піпер.)	<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)
Тільки Піпер.	>32	>32	>32	>32	>32	>32
Піпер. + Тазобактам (4 мкг/мл)	>32	4	32	4	8	8
Піпер. + Авібактам (2 мкг/мл)	4	2	4	4	4	2
Піпер. + Релебактам (2 мкг/мл)	4	>32	>32	16	4	>32
Піпер. + Пр. 1 (2 мкг/мл)	4	2	2	2	8	2
Піпер. + Пр. 2 (2 мкг/мл)	2	4	4	4	8	4
Піпер. + Пр. 3 (2 мкг/мл)	2	4	2	4	8	4
Піпер. + Пр. 4 (4 мкг/мл)	2	4	4	2	4	ND
Піпер. + Пр. 5 (4 мкг/мл)	1	2	2	2	16	ND
Піпер. + Пр. 6 (4 мкг/мл)	2	4	4	4	4	ND
Піпер. + Пр. 7 (2 мкг/мл)	2	2	4	4	8	8
Піпер. + Пр. 8 (4 мкг/мл)	4	4	4	2	4	ND

Потенціювання активності (мкг/мл) бета-лактаму 5 за допомогою інгібіторів бета-лактамази у ізогенних штаммах *E. coli*, які експресують окремі бета-лактамази.

Бета-лактаму 5 (5)	<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)
тільки бета-лактаму 5	0,25	2	0,5	0,125	0,25	0,5
5 + Пр. 1 (2 мкг/мл)	0,25	0,125	0,25	0,25	0,25	0,25
5 + Авібактам (2 мкг/мл)	0,125	0,125	0,125	0,25	0,125	0,125
5 + Релебактам (2 мкг/мл)	0,125	0,25	0,125	0,25	0,25	0,25

Потенціювання активності (мкг/мл) азтреонаму за допомогою інгібіторів бета-лактамази у резистентних до бета-лактаму клінічних ізолятах

АЗТРЕОНАМ	<i>K. pneumoniae</i> NB29323 (CTX-M-15, OXA-48, VEB-1)	<i>Enterobacter cloacae</i> NB25044 (CTX-M-12, ACT, KPC-2)
тільки Азтреонам	>64	>64
AZ + Пр. 1 (2 мкг/мл)	0,25	4
AZ + Авібактам (2 мкг/мл)	2	8
AZ + Релебактам (2 мкг/мл)	8	>64

Потенціювання активності (мкг/мл) піперациліну за допомогою інгібіторів бета-лактамази у резистентних до бета-лактаму клінічних ізолятах.

ПІПЕРАЦИЛІН	K. pneumoniae NB29082 (KPC-2)	Enterobacter cloacae NB25055 (CMY-2)	S. aureus NB01437(BLA+)
Піперацилін	>64	>64	64
Піпер. + Тазобактам (4 мкг/мл)	>64	64	1
Піпер. + Пр. 1 (2 мкг/мл)	8	4	1

Ці дані показують, що потенціювання сполуками даного винаходу є аналогічним або вищим за дію деяких інгібіторів бета-лактамази, які використовуються у клініці, коли їх використовують у комбінації з комерційними бета-лактамними антибіотиками для лікування інфекцій, викликаних бактеріями, які є резистентними до деяких відомих бета-лактамних антибіотиків.

Для спеціалістів у цій галузі є очевидним, або вони здатні встановити шляхом проведення звичайних експериментів, наявність багатьох еквівалентів для описаних у винаході конкретних варіантів здійснення та способів. Мається на увазі, що такі еквіваленти входять у обсяг приведених далі пунктів формули винаходу.

Перелік послідовностей

<110> Novartis AG
 <120> ІНГІБІТОРИ БЕТА-ЛАКТАМАЗ
 <130> PAT057369-WO-PCT
 <140> PCT/IB2017/055973
 <141> 2017-09-28
 <150> 62/401,022
 <151> 2016-09-28
 <160> 41
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 32
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
 <400> 1
 tcgcctcgag gcgactgcgc tgacgaattt gg 32
 <210> 2
 <211> 33
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
 <400> 2
 aatcgaattc ttactgacca ttaacgcccc agc 33
 <210> 3
 <211> 30
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
 <400> 3
 tcgcctcgag gcgagcccc aaccgctgga 30
 <210> 4
 <211> 32
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність


```

<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 4
aatcgaattc ttaacgctgc cagtgcctca tc 32

<210> 5
<211> 34
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 5
cgctctcgag agcgtcccg cgtacgcaca aacg 34

<210> 6
<211> 32
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 6
aatcgaattc ttacagaccg tcggtgacaa tc 32

<210> 7
<211> 884
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 7
atggggccatc atcatcatca tcacagcagc ggccctggaag ttctgttcca gggggcccgcg 60
actgcgctga cgaatttggt ggccgagccg ttccgcaaat tggagcaaga ttttggtggt 120
tcgatcggtg tctacgcgat ggacaccggt agcgggtcca cgtgagcta ccgtgccgaa 180
gagcgttttc cgctgtgtag ctctttcaag ggttttctgg ccgcagccgt gctggcacgc 240
agccaacagc aagcgggctt gctggacacc ccgatccgtt acggcaaaaa tgcgctggtt 300
ccgtggagcc cgattagcga aaagtacctg accaccggca tgacgggtggc ggagttgagc 360
gctgcggcgg ttccagtattc cgataacgct gcggcaaatc tgctgctgaa agaactgggc 420
gggtccagcg gctcagcgc tttcatgcgt tctattggcg acaccacctt tcgcttgac 480
cgctgggagc tggagctgaa cagcgcgatt ccgggcgacg cactgatac gagcagcccg 540
cgtgcagtga ccgagagcct gcagaagctg accctgggca gcgcaactggc cgcaccgcag 600
cgccaacagt tcgtcgattg gctgaagggt aacaccaccg gtaaccatcg tattcgcgca 660
gcgggtcccg ctgattgggc agttggtgac aagactggta cgtgcggcgt ttatgggtacg 720
gcgaatgact acgcgggtgt ttggcctacg ggtcgtgcgc cgatcgctct ggcgggtgtat 780

```

```

accggtgctc cgaacaaaga cgataaacac tccgaagcgg tcatcgccgc agcagcgct 840
ctggccctgg aaggcttggg cgttaatggt cagtaacgcc ggcg 884

<210> 8
<211> 32
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 8
tcgcctcgag gcgactgcgc tgacgaattt gg 32

<210> 9
<211> 33
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 9
aatcgaattc ttactgacca ttaacgcccc agc 33

<210> 10
<211> 33
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 10
gcttggggcgt taatgggtcag taagaattcg att 33

<210> 11
<211> 866
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 11
atggggccatc atcatcatca tcacagcagc ggccctggaag ttctgttcca ggggccccgcg 60
agccccgaac cgctggagca gatcaagcag tctgagagcc agctgagcgg ccgtgtgggt 120
atgatcgaga tggatctggc ttccggccgt acgctgacgg catggcgtgc cgacgaacgt 180
ttcccgatga tgtcgacctt taaagtgtt ctgtgtggtg cggctcttggc acgtgtagac 240
gcgggtgacg aacaaactgga gcgcaagatc cattaccgcc aacaggactt ggtcgactac 300
agccccgtta gcgaaaagca cctggcggat ggcattgaccg tgggtgaatt gtgcgccgct 360

```

```

gcgattacca tgagcgacaa tagcgcggt aatctgctgt tggcgaccgt tgggtggcca 420
gcgggcttga ccgcatttct gcgtcaaate ggcgataatg ttacgcgtct ggatcgctgg 480
gaaacggagc tgaacgaggc actgcgggt gatgcccgtg ataccacgac tccgtctagc 540
atggcagcga cccgtcgtaa actgctgacc agccagcgtc tgagcgacg tagccaacgc 600
cagctgctgc aatggatggt ggatgaccgc gtggcggtgc cgtcgatccg cccgtctctg 660
ccagcaggct ggttcattgc ggacaaaact ggtgcctcta agcgtggtgc gcgtgggtatc 720
gtcgcgctgc tgggtccgaa caacaaagcc gaacgtattg tggttatcta tctgcgcgac 780
accccgccaa gcattggcga gcgcaaccag caaattgcgg gcattggtgc ggcactgatt 840
gagcactggc agcgttaacg ccggcg 866

```

<210> 12

<211> 30

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклотид"

<400> 12

tcgcctcgag gcgagccgc aaccgctgga 30

<210> 13

<211> 32

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклотид"

<400> 13

aatcgaattc ttaacgctgc cagtgcctaa tc 32

<210> 14

<211> 32

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклотид"

<400> 14

gattgagcac tggcagcgtt aagaattcga tt 32

<210> 15

<211> 34

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклотид"

```

<400> 15
cgctctcgag agcgtcccg cgtacgcaca aacg
34

<210> 16
<211> 32
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 16
aatcgaattc ttacagaccg tcggtgacaa tc
32

<210> 17
<211> 30
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 17
gacctcgagg gcgaggcccc gccggatcgc
30

<210> 18
<211> 29
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 18
tgagaattct cagcgcttca gccggacct
29

<210> 19
<211> 31
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 19
ttcaactgcag tgaacgttgc gaagcaacgg c
31

<210> 20
<211> 41
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

```

```

<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 20
tcgaggatcc tcgagagcaa aaacaggaag gcaaaatgcc g 41

<210> 21
<211> 30
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 21
ccgtctagac gcatggcctt ttgctgttc 30

<210> 22
<211> 33
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 22
aatcgaattc ttactgacca ttaacgcca agc 33

<210> 23
<211> 32
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 23
aatcgaattc ttaacgctgc cagtgtcaa tc 32

<210> 24
<211> 32
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 24
aatcgaattc ttacagaccg tcggtgacaa tc 32

<210> 25
<211> 24

```

```

<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 25
gaattcgcta gsscaaaaaa acgg                                     24

<210> 26
<211> 29
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 26
cgtcttgctc caggccgcga ttaaattcc                                   29

<210> 27
<211> 24
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 27
tcgcggcctg gagcaagacg tttc                                       24

<210> 28
<211> 19
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 28
tcacgtagcg atagcggag                                             19

<210> 29
<211> 28
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 29
cgcgagaccc acgcttaccg gctccaga                                   28

```

```

<210> 30
<211> 25
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 30
ctcgcccttga tagttgggaa ccgga                                25

<210> 31
<211> 24
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 31
cgggttcccaa cttatcaaggc gagt                                24

<210> 32
<211> 21
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 32
gacattgccc tcaactgcgtc t                                    21

<210> 33
<211> 19
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 33
tcacgtagccg atagcggag                                        19

<210> 34
<211> 41
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 34

```

```

gtaactcgcc ttgatagttg ggaaccggag ctgaatgaag c 41

<210> 35
<211> 20
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 35
gcgggaccaa agccatgaca 20

<210> 36
<211> 47
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 36
accgcgagac ccacgcttac cggctccaga tttatcagca ataaacc 47

<210> 37
<211> 34
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 37
gtaagaattc ttaccaatgc ttaatcagtg aggc 34

<210> 38
<211> 30
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 38
ccgtctagac ggatggcctt ttgcgcttc 30

<210> 39
<211> 875
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>

```



```

<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 39
atggggccatc atcatcatca tcacagcagc ggccctggaag ttctgttcca gggggcccagc      60
gtcccgcgtgt acgcacaaaac ggccgacgtg caacagaaaac tggcggagtt ggaacgtcag      120
agcgggtggcc gtttggggtgt agccctgacg aataccgcgg acaatagcca aattctgtat      180
cgtgcggacg aacgcttcgc gatgtgcagc acgagcaagg tgatggccgc tgcggccggt      240
ctgaagaaat ccgagagcga gccgaacttg ctgaatcagc gcgttgagat caagaagtgc      300
gatctgggtga actataaccc tatcgcggaa aaacatgtca acggcaccat gtccctggca      360
gagctgagcg cggctgcgtt gcagtactct gataacgtcg caatgaataa actgatcgca      420
cacgtcgggtg gccagcaag cgtgaccgcc ttgcgcgctc aactgggcga tgaaactttt      480
cgtctggatc gtaccgaacc gaccctgaat acggcaattc cgggtgatcc gcgcgacacg      540
acgagcccg cgtgcaatggc acagaccctg cgcaacctga cctgggtaa agcgtggggc      600
gatagccaac gtgcgcagct gggtacgtgg atgaagggtg acaccacgg tgcggccagc      660
attcaagcgg gcctgccggc cagctgggtt gttggtgata aaactggctc cgggtggttat      720
ggtaccacga atgacatcgc gggtatttgg ccgaaggacc gtgcgcgctt gatcctgggt      780
acctacttca ccagccgca gccgaaagct gagtctcgcc gtgacgtgct ggcgagcgca      840
gctaagattg tcaccgacgg tctgtaacgc cggcgc      875

<210> 40
<211> 24
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 40
tgccttctctg tttttgctct cgag      24

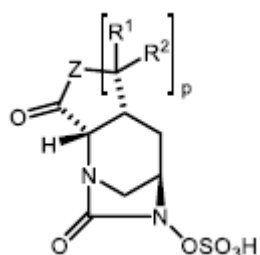
<210> 41
<211> 28
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> /примітка="Опис штучної послідовності: Синтетичний полінуклеотид"
<400> 41
tggagccggg aagcgtgggt ctgcgggt      28

```

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

5

1. Сполука формули (A):



у якій

p приймає значення 1 або 2;

10 R¹ та R² незалежно вибрані з H та C₁-C₄алкілу, необов'язково заміщеного за допомогою до

трьох груп, вибраних з галогену, CN, -OR, оксо та -NRR';

Z являє собою NR³ або N-OR³;

R³ незалежно вибраний у кожному випадку з H, Су та C₁-C₄алкілу, необов'язково заміщеного за допомогою до трьох груп, вибраних з Су, галогену, CN, -OR та -NRR';

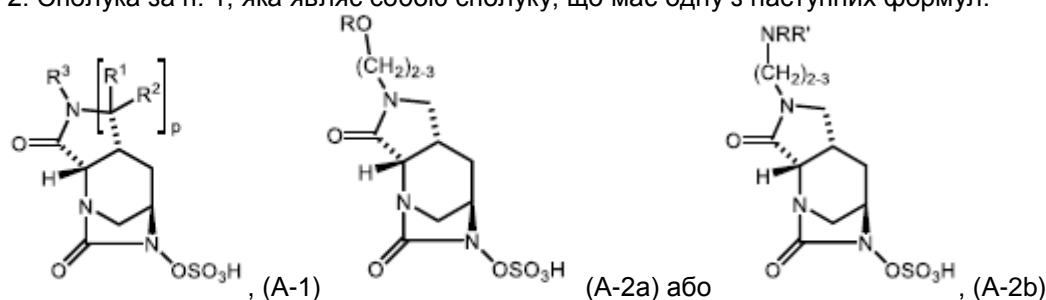
5 Су являє собою C₃-C₆ циклоалкільне кільце або 4-6-членне гетероциклічне кільце, що містить один або два гетероатоми, вибрані з N, O та S як кільцевих членів, та Су є необов'язково заміщеним за допомогою до трьох груп, вибраних з оксо, галогену, C₁-C₂ алкілу, CN, -OR та -NRR'; та

10 R та R' незалежно вибрані з H та C₁-C₄алкілу, необов'язково заміщеного однією або двома групами, вибраними з галогену, -OH, -CN, -O-(C₁-C₄алкіл), оксо, -NH₂, -NH(C₁-C₄алкіл) та -N(C₁-C₄алкіл)₂,

або R та R', взяті разом з атомом азоту, до якого вони обидва прикріплені, можуть утворювати кільце, вибране з піперидину, морфоліну, піролідину та азетидину, де кільце є необов'язково заміщеним однією або двома групами, вибраними з галогену, C₁-C₂алкілу, -OH, -CN, -O-(C₁-C₄алкіл), оксо, -NH₂, -NH(C₁-C₄алкіл) та -N(C₁-C₄алкіл)₂;

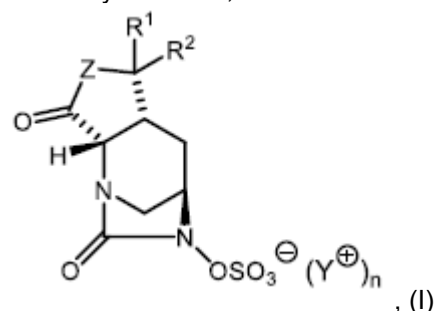
15 або її сіль, або цвітер-іонна форма.

2. Сполука за п. 1, яка являє собою сполуку, що має одну з наступних формул:



або її сіль, або цвітер-іонна форма.

20 3. Сполука за п. 1, яка являє собою сполуку формули (I):



у якій

R¹ та R² незалежно вибрані з H та C₁-C₄алкілу, необов'язково заміщеного за допомогою до трьох груп, вибраних з галогену, CN, -OR, оксо та -NRR';

25 Z являє собою NR³ або N-OR³;

R³ незалежно вибраний у кожному випадку з H, Су та C₁-C₄алкілу, необов'язково заміщеного за допомогою до трьох груп, вибраних з Су, галогену, CN, -OR та -NRR';

30 Су являє собою C₃-C₆ циклоалкільне кільце або 4-6 членне гетероциклічне кільце, що містить один або два гетероатоми, вибрані з N, O та S як кільцевих членів, та Су є необов'язково заміщеним за допомогою до трьох груп, вибраних з оксо, галогену, C₁-C₂алкілу, CN, -OR та -NRR'; та

R та R' незалежно вибрані з H та C₁-C₄алкілу, необов'язково заміщеного однією або двома групами, вибраними з галогену, -OH, -CN, -O-(C₁-C₄алкіл), оксо, -NH₂, -NH(C₁-C₄алкіл) та -N(C₁-C₄алкіл)₂,

35 або R та R', взяті разом з атомом азоту, до якого вони обидва прикріплені, можуть утворювати кільце, вибране з піперидину, морфоліну, піролідину та азетидину, де кільце є необов'язково заміщеним однією або двома групами, вибраними з галогену, C₁-C₂алкілу, -OH, -CN, -O-(C₁-C₄алкіл), оксо, -NH₂, -NH(C₁-C₄алкіл) та -N(C₁-C₄алкіл)₂;

Y являє собою катіонну групу;

40 n приймає значення 0 або 1; та

коли n приймає значення 0, сполука формули I знаходиться у цвітер-іонній формі.

4. Сполука за п. 1 або 3, у якій Z являє собою NR³,

та R³ являє собою H або C₁-C₄алкіл, необов'язково заміщений за допомогою -OR або -NRR',

або її сіль, або цвітер-іонна форма.

5. Сполука за п. 4, у якій R^3 являє собою C_1 - C_2 алкіл, необов'язково заміщений за допомогою -OR або -NRR',

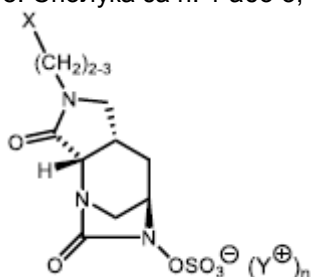
або її сіль, або цвітер-іонна форма.

5 6. Сполука за п. 4, у якій R^3 являє собою H,

або її сіль, або цвітер-іонна форма.

7. Сполука за будь-яким з пп. 1-3, у якій R^1 та R^2 обидва являють собою H, або її сіль або цвітер-іонна форма.

8. Сполука за п. 1 або 3, яка має структуру:

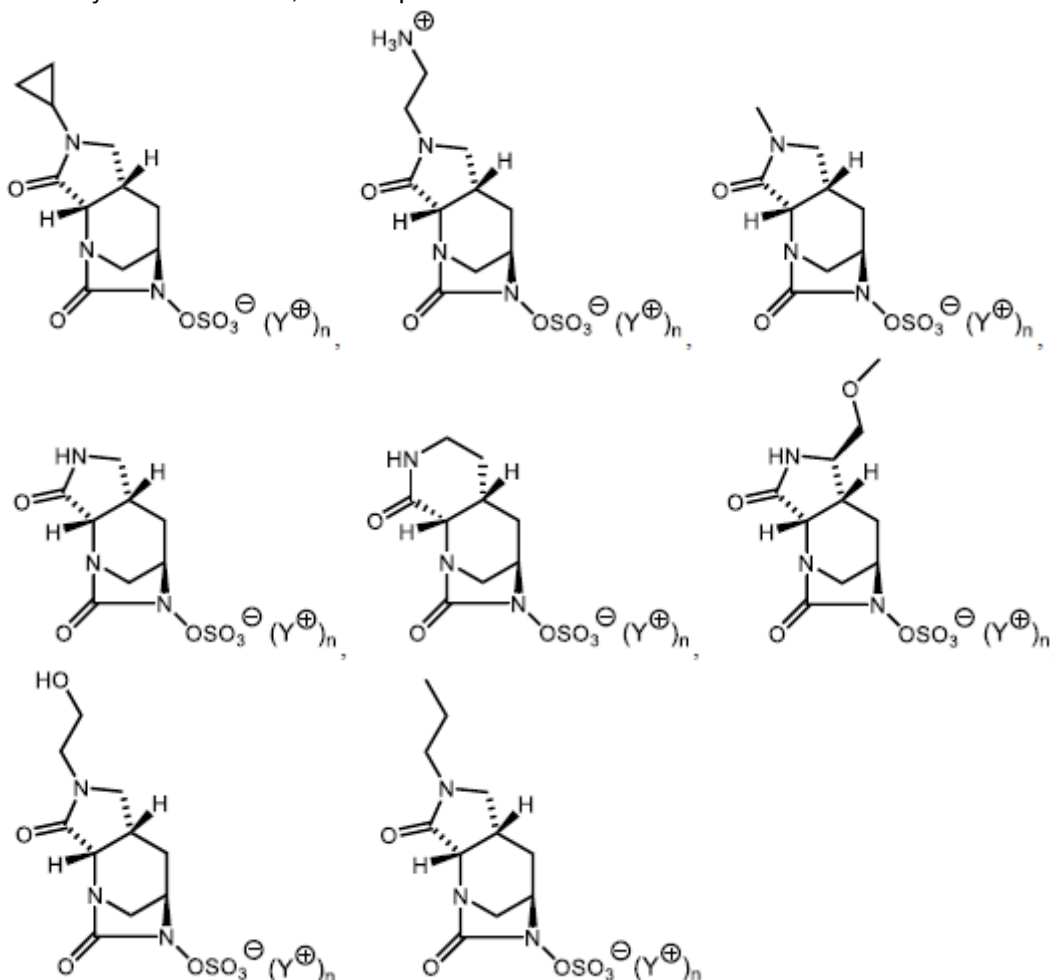


10 , (II)

у якій X являє собою -OR або -NRR';

у вигляді її сольової або цвітеріонної форми.

9. Сполука за п. 1 або 3, яка вибрана з:



15

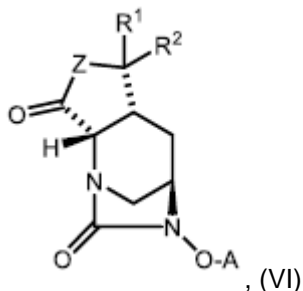
та їх сольових або цвітер-іонних форм.

10. Сполука за будь-яким з пп. 1-3, у якій n приймає значення 1 та Y вибраний з натрію, калію, амонію, кальцію, магнію, заліза, срібла, цинку та міді.

20 11. Сполука за будь-яким з пп. 1-3, у якій Y являє собою натрій.

12. Сполука за будь-яким з пп. 1-3, яка представлена у формі фармацевтично прийнятної солі або цвітер-іону.

13. Сполука формули (VI):



у якій

R^1 та R^2 незалежно вибрані з H та C_1 - C_4 алкілу, необов'язково заміщеного за допомогою до трьох груп, вибраних з галогену, CN, -OR, оксо та -NRR';

Z являє собою NR^3 або $N-OR^3$;

R^3 незалежно вибраний у кожному випадку з H, Су та C_1 - C_4 алкілу, необов'язково заміщеного за допомогою до трьох груп, вибраних з Су, галогену, CN, -OR та -NRR';

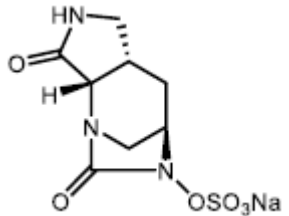
Су являє собою C_3 - C_6 циклоалکیلне кільце або 4-6-членне гетероциклічне кільце, що містить один або два гетероатоми, вибрані з N, O та S як кільцевих членів, та Су є необов'язково заміщеним за допомогою до трьох груп, вибраних з оксо, галогену, C_1 - C_2 алкілу, CN, -OR та -NRR'; та

R та R' незалежно вибрані з H та C_1 - C_4 алкілу, необов'язково заміщеного однією або двома групами, вибраними з галогену, C_1 - C_2 алкілу, -OH, -CN, -O-(C_1 - C_4 алкіл), оксо, -NH₂, -NH(C_1 - C_4 алкіл) та -N(C_1 - C_4 алкіл)₂,

або R та R', взяті разом з атомом азоту, до якого вони обидва прикріплені, можуть утворювати кільце, вибране з піперидину, морфоліну, піролідину та азетидину, де кільце є необов'язково заміщеним однією або двома групами, вибраними з галогену, C_1 - C_2 алкілу, -OH, -CN, -O-(C_1 - C_4 алкіл), оксо, -NH₂, -NH(C_1 - C_4 алкіл) та -N(C_1 - C_4 алкіл)₂;

A являє собою H або -CH₂-Ph, де Ph являє собою феніл, необов'язково заміщений однією або двома групами, вибраними з галогену, C_1 - C_4 алкілу, C_1 - C_4 алкокси; або її сіль.

14. Сполука формули (VII):



15. Сполука за п. 14 у кристалічній формі.

16. Сполука за п. 15, яка показує ендотерму диференційної скануючої калориметрії між 283 та 350 °C.

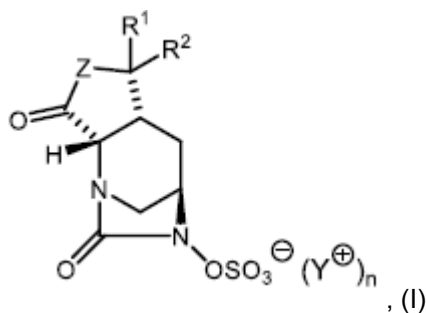
17. Сполука за п. 15, яка характеризується XRPD піками при дифракційних кутах (2тета) 8,3 та 16,6 градуса.

18. Сполука за п. 17, яка додатково характеризується одним або більше додатковими XRPD піками при дифракційних кутах (2тета) 25,1 або 31,3 градуса.

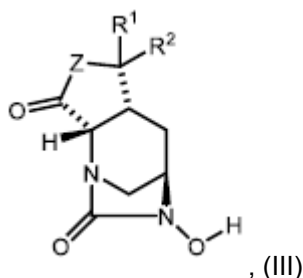
19. Сполука за п. 18, яка додатково характеризується одним або більше додатковими XRPD піками при дифракційних кутах (2тета) 27,4 або 28,7 градуса.

20. Сполука за п. 19, яка додатково характеризується додатковими XRPD піками при дифракційних кутах (2тета) 19,5 градуса або 21,7 градуса.

21. Спосіб одержання сполуки формули (I) за п. 3:



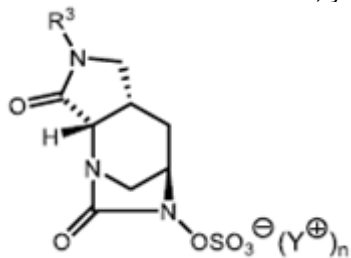
де спосіб включає приведення у контакт сполуки формули (III)



у якій Z, R¹ та R² та R³ приймають значення, визначені у п. 3,
з сульфонулюючим агентом у присутності основи.

22. Спосіб за п. 21, де Z являє собою NR³ та R³ являє собою H або C₁-C₂алкіл, необов'язково заміщений за допомогою -OR або -NRR¹.

23. Спосіб за п. 21 або 22, у якому сполука формули (I) має формулу:



24. Спосіб за будь-яким з пп. 22-23, де R³ являє собою H.

25. Фармацевтична композиція, яка включає сполуку за будь-яким з пп. 1-20 та щонайменше один фармацевтично прийнятний носій.

26. Спосіб лікування грамнегативної бактеріальної інфекції, який включає введення суб'єкту, якому необхідне таке лікування, сполуки за будь-яким з пп. 1-20 та бета-лактачного антибіотику.

27. Спосіб за п. 26, у якому бактеріальна інфекція викликана видами Burkholderia, Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Morganella, Moraxella, Providencia, Pseudomonas, Proteus, Salmonella, Serratia, Acinetobacter, Bacteroides, Prevotella, Campylobacter, Neisseria, Haemophilus або Stenotrophomonas бактерій.

28. Спосіб за п. 26 або 27, у якому бактеріальна інфекція являє собою внутрішньолікарняну пневмонію, інфекцію черевної порожнини або інфекцію сечовивідних шляхів, викликану видами Enterobacteriaceae або Pseudomonas.

29. Сполука за будь-яким з пп. 1-20 для застосування у терапії.

30. Сполука за п. 29, де застосування у терапії являє собою лікування бактеріальної інфекції.

31. Сполука за п. 29, де терапія являє собою лікування грамнегативної бактеріальної інфекції, викликані видами Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Morganella, Moraxella, Providencia, Pseudomonas, Proteus, Salmonella, Serratia, Acinetobacter, Bacteroides, Prevotella, Campylobacter, Neisseria або Stenotrophomonas.

32. Фармацевтична комбінація, яка включає сполуку за будь-яким з пп. 1-20 та бета-лактачний антибіотик.

33. Спосіб лікування суб'єкта, що має грамнегативну бактеріальну інфекцію, який включає введення суб'єкту ефективної кількості бета-лактачного антибіотику та сполуки формули (A) за будь-яким з пп. 1-20.

34. Спосіб за п. 33, у якому сполуку формули (A) вводять у кількості, ефективній для потенціювання антибактеріальної активності бета-лактачного антибіотику.

Знімок скануючої електронної мікроскопії кристалічної форми сполуки Формули (VII)

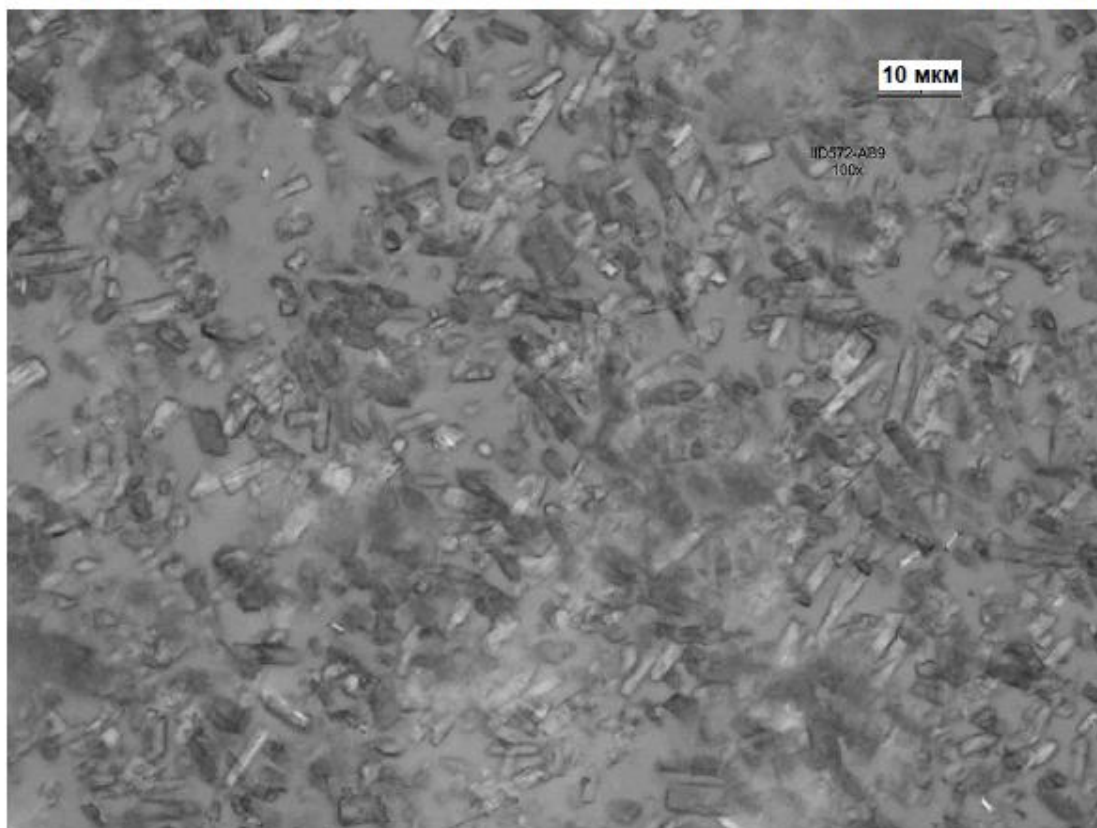
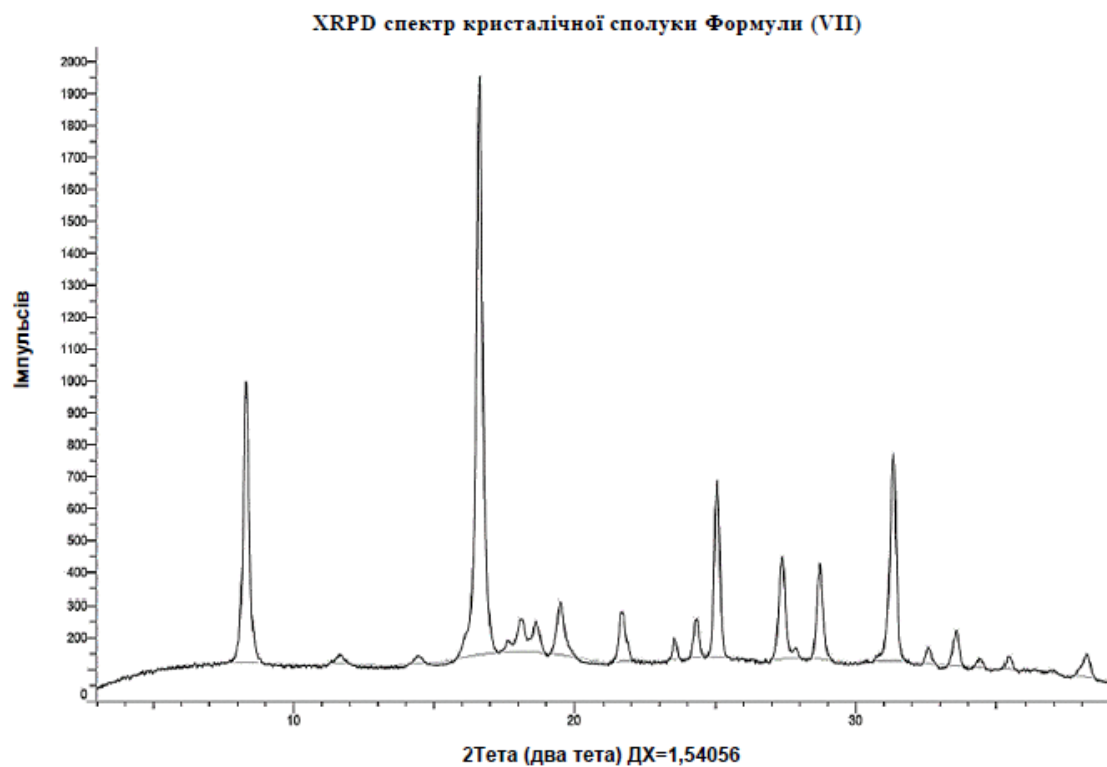
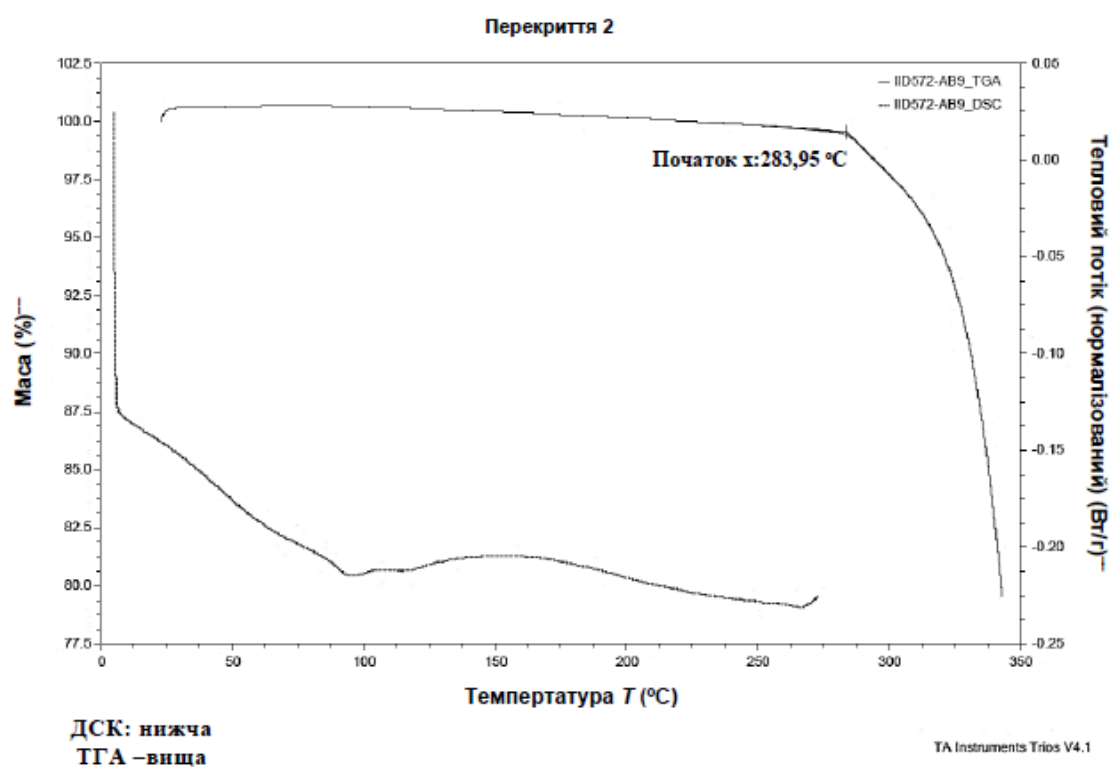


Fig. 1



Фіг. 2



Фіг. 3