



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **103102** (13) **C2**
(51) МПК (2013.01)
A01N 57/00
C07C 403/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

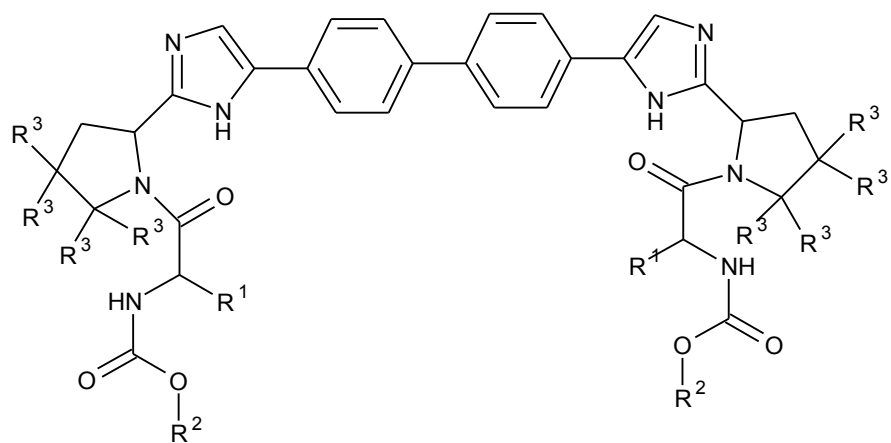
| | | | |
|---|---|--|---|
| (21) Номер заявки: | а 2012 01829 | (72) Винахідник(и): | Чен Пінг'юн (US), Коуч Рікі (US), Дуан Маошенг (US), Грімз Річард Мартін (US), Казмірські Вісло Міцісло (US), Нортон Бет Адамс (US), Таллант Метт'ю (US) |
| (22) Дата подання заявки: | 26.08.2010 | (73) Власник(и): | ГЛАКСОСМІТКЛАЙН ЛЛК, One Franklin Plaza, 200 North 16th Street, Philadelphia, PA 19102, United States of America (US) |
| (24) Дата, з якої є чинними права на винахід: | 10.09.2013 | (74) Представник: | Крилова Надія Іванівна, реєстр. №30 |
| (31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: | 61/239,855, 61/297,324, 61/348,767 | (56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: | US 2008/0050336 A1; 28.02.2008 WO 2008/064218 A2; 29.05.2008 US 2009/0068140; 12.03.2009 WO 2009/020828; 12.02.2009 |
| (32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: | 04.09.2009, 22.01.2010, 27.05.2010 | | |
| (33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: | US, US, US | | |
| (41) Публікація відомостей про заявку: | 25.06.2012, Бюл.№ 12 | | |
| (46) Публікація відомостей про видачу патенту: | 10.09.2013, Бюл.№ 17 | | |
| (86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ | PCT/US2010/046782, 26.08.2010 | | |

(54) **ПОХІДНІ МЕТИЛ[2-МЕТИЛ({2-[4-(4'-{2-[7-(3-МЕТИЛ-2-
{[(МЕТИЛОКСИ)КАРБОНІЛ]АМІНО}БУТАНОІЛ)-1,4-ДІОКСА-7-АЗАСПІРО[4,4]НОН-8-ІЛ]-1Н-ІМІДАЗОЛ-4-
ІЛ}-4-БІФЕНІЛІЛ)-1Н-ІМІДАЗОЛ-2-ІЛ]-1-ПІРОЛІДИНІЛ}КАРБОНІЛ)ПРОПІЛ]КАРБАМАТУ** для
ЗАСТОСУВАННЯ В ЛІКУВАННІ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ В ЛЮДЕЙ

(57) Реферат:

Представлений винахід стосується сполуки формули III та її солей, а також фармацевтичної композиції, яка містить сполуки або солі, застосування сполуки формули III та її солей та способів лікування інфекції HCV.

UA 103102 C2



III

Заявлений винахід стосується противірусних сполук. Зокрема, заявлений винахід стосується сполук, корисних для лікування інфекції гепатиту вірусу С (HCV), кристалічних солей сполук, фармацевтичних композицій, які містять сполуки, та способів лікування інфекції HCV.

Хронічні інфекції HCV є гострими проблемами щодо здоров'я, асоційованими із цирозом печінки, гепатоцелюлярним раком та печінковою недостатністю. Оцінено, що у всьому світі 170 мільйонів хронічних носіїв є при ризику розвитку хвороби печінки. Дивись, наприклад, Szabo, et al., *Pathol.Oncol.Res.* 2003, 9:215-221, та Hoofnagle JH, *Hepatology* 1997, 26:15S-20S. У Сполучених Штатах тільки 2,7 мільйони є хронічно інфікованими HCV, та встановлено, що число померлих залежних від HCV у 2000 дорівнює 8,000 – 10,000, та очікують значного підвищення у наступні роки. Інфекція HCV бессимптомно розвивається у великій долі хронічно інфікованих (та інфекційних) носіїв, які не відчували клінічні симптоми багато років. Цироз печінки, зрештою, може призводити до печінкової недостатності. Зараз зрозуміло, що печінкова недостатність, отримана внаслідок хронічної інфекції HCV, є головною причиною трансплантації печінки.

HCV - член сімейства *Flaviviridae* вірусів РНК, які вражають тварин та людей. Генوم - єдина нитка, приблизно, з 9,6-тисячами гетероциклічних основ нуклеїнової кислоти, РНК, та складається з одної відкритої рамки зчитування, яка кодує поліпротеїн, приблизно, 3000 амінокислот, захищених нетрансльованими областями при 5' та 3' кінцях (5'- та 3'-UTR). Поліпротеїн є попередником, принаймні, 10 окремих вірусних білків, важливих для реплікації та зборки вірусних часточок потомства. Організація структурних та неструктурних білків у поліпротеїні HCV є наступною: C-E1-E2-p7-NS2-NS3-NS4a-NS4b-NS5a-NS5b. Оскільки реплікативний цикл HCV не охоплює будь-який проміжний вид ДНК, та вірус не інтегровано в генوم хазяїна, від інфекції HCV теоретично можна вилікувати. Тоді як патологія інфекції HCV переважно вражає печінку, вірус знайдено в інших типах клітин організму, охоплюючи лімфоцити периферійної крові. Дивись, наприклад, Thomson BJ and Finch RG, *Clin Microbial Infect.* 2005, 11:86-94, та Moriishi K та Matsuura Y, *Antivir.Chem.Chemother.* 2003, 14:285-297.

Тепер звичайне лікування хронічного HCV – це інтерферон альфа (IFN-альфа) в комбінації з рибавірином, та це потребує, принаймні, шість (6) місяців лікування. IFN-альфа стосується сімейства нативних малих білків характерних біологічних дій, як-то противірусні, імунорегуляторні та протипухлинні активності, які створено та секретовано більшістю клітин з ядром у тварин на відклик на деякі хвороби, зокрема, на вірусні інфекції. IFN-альфа є важливим регулятором розвитку та диференціації, який впливає на клітинну комунікацію та імунологічний контроль. Лікування HCV інтерфероном часто асоційовано зі шкідливими побічними діями, як-то втома, лихоманка, озноб, головний біль, біль у м'язах, артралгія, помірна алопеція, психіатричні наслідки та асоційовані із цим розлади, аутоімунний феномен та асоційовані із цим розлади, та дисфункція щитоподібної залози. Рибавірин, інгібітор інозин 5'-монофосфатдегідрогенази (IMPDH), підсилює ефективність IFN-альфа в лікуванні HCV. Незважаючи на введення рибавірину, більше ніж у 50% пацієнтів не вилучено вірус дією звичайного лікування інтерфероном-альфа (IFN) та рибавірином. До цього часу звичайне лікування хронічного гепатиту С слід змінювати на комбінацію регульованого IFN-альфа плюс рибавірин. Однак, численні пацієнти ще мають значні побічні дії, головним чином, стосовно рибавірину. Рибавірин спричиняє значний гемоліз у 10-20% пацієнтів, яких лікували рекомендованими тепер дозами, та ці ліки є тератогенними та ембріотоксичними. Навіть із недавніми покращеннями суттєва доля пацієнтів не реагувала суттєвим зменшенням вірусного навантаження, і тепер існує чітка потреба щодо більш ефективної противірусної терапії інфекції HCV. Дивись, наприклад, Fried, et al. *N. Engl. J Med* 2002, 347:975-982.

Розглядають рід підходів для подолання вірусу. Вони охоплюють, наприклад, застосування антисенсових олігонуклеотидів або рибосом для реплікації інгібування HCV. Крім того, сполуки низької молекулярної маси, які безпосередньо інгібують білки HCV та заважають вірусній реплікації, розглядають як привабливу стратегію для контролю інфекції HCV. Серед вірусних мішеней NS3/4A протеазу/хеліказу та NS5b РНК-залежну РНК-полімеразу вважають найбільш перспективними вірусними мішенями для нових ліків. Дивись, наприклад, Ni, Z. J. та Wagman, A. S. *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* 2004, 7, 446-459, Beaulieu, P. L. та Tsantrizos, Y. S. *Curr. Opin. Investig. Drug* 2004, 5, 838-850, та Griffith, et al., *Ann. Rep. Med. Chem* 39, 223-237, 2004.

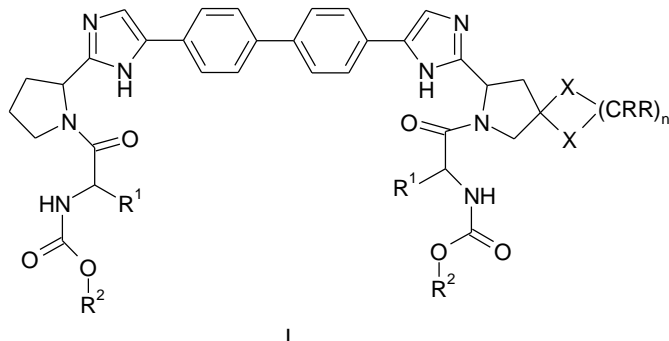
Окрім націлювання на вірусні гени та їх транскрипцію й продукти трансляції, противірусної активності також можна досягати націлюванням на білки клітини-хазяїна, які потрібні для вірусної реплікації. Наприклад, у Watashi, et al, *Molecular Cell*, 19, 111-122, 2005, показано як можна досягати противірусної активності інгібуванням циклофілінів клітини-хазяїна. Альтернативно, виявлено сильний агоніст TLR7 для зменшення рівнів плазми HCV у людей. Дивись, Horsmans, et al, *Hepatology*, 42, 724-731, 2005.

Сполуки, названі корисними для лікування інфекції HCV розкрито, наприклад, у WO 2008/064218 (Leivers et. al), WO 2008/244380 (Bachand et. al), та US 2009/0068140 (Bachand et. al). У цих посиланнях також розкрито способи отримання сполук, композицій, які містять сполуки, фармацевтичні композиції, які містять сполуки та додаткові сполуки, способи лікування HCV, сполуки солей, шляхи застосування, та іншу інформація стосовно того, як зробити,

5

створити рецептуру та застосувати сполуки.

Коротко, згідно з одним аспектом заявленого винаходу розкрито сполуки формули I;



I

де кожне R¹ незалежно – H або C₁₋₃алкіл;

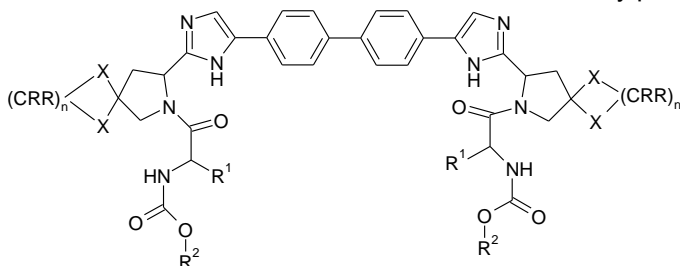
кожне R² незалежно – C₁₋₃алкіл;

кожне X незалежно – CRR, O, або S;

n дорівнює 2 або 3; та

кожне R незалежно – метил, гідроген, або дейтерій.

Згідно із ще одним аспектом заявленого винаходу розкрито сполуки формули II;



II

де кожне R¹ незалежно – H або C₁₋₃алкіл;

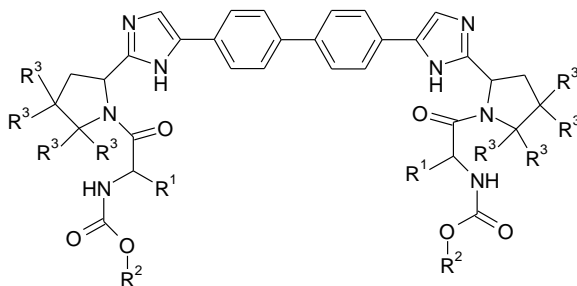
кожне R² незалежно – C₁₋₃алкіл;

кожне X незалежно – CRR, O, або S;

кожне n незалежно – 2 або 3; та

кожне R незалежно – метил, гідроген, або дейтерій.

Згідно із ще одним аспектом заявленого винаходу розкрито сполуки формули III;



III

де кожне R¹ незалежно – H або C₁₋₃алкіл;

кожне R² незалежно – C₁₋₃алкіл;

на кожному карбоні, на якому є R³ групи, будь-яка R³ – H, або групи R³ разом з карбоном, до якого вони приєднані, утворюють 4-, 5-, або 6-членне насичене спіро-кільце, за умови, що є не більше 1 спіро-кільця, на кожне насичене кільце, яке містить нітроген;

кожне насичене спіро, утворене із груп R³, незалежно є циклоалкілом, або може містити 1 або 2 атоми оксигену, або 1 або 2 атоми сульфуру, або 1 SO₂, або 1 NR⁴;

кожне R⁴ незалежно – H, C(O)OC₁₋₄алкіл, C(O)C₁₋₄алкіл, C(O)NC₁₋₄алкіл, або SO₂C₁₋₄алкіл;

кожне спіро-кільце необов'язково може заміщуватися дейтерієм, флуором або 1 або 2 групами метилу.

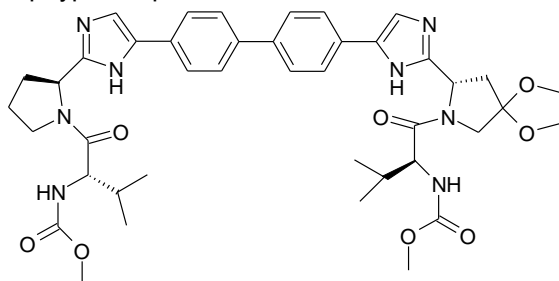
Згідно із ще одним аспектом заявленого винаходу розкрито фармацевтично прийнятні солі сполук формули I, II, або III.

Згідно із ще одним аспектом заявленого винаходу розкрито фармацевтичні композиції, які містять сполуку формули I, II, або III, або її фармацевтично прийнятну сіль.

5 Згідно із ще одним аспектом заявленого винаходу розкрито спосіб лікування вірусної інфекції, наприклад, інфекції HCV, у людей, який охоплює фармацевтичну композицію винаходу.

У вищенаведених формулах I, II, та III, окрім того, коли R^1 є гідрогеном, карбон, до якого приєднано R^1 , є хіральним. Крім того, зображений третинний карбон у кожному із двох зображених 5-членних насичених гетероциклічних кілець, які містять нітроген, є також хіральним. Отже, сполуки містять, принаймні, два хіральних атоми карбону, та коли кожне R^1 – C_{1-3} алкіл, сполуки містять, принаймні, 4 хіральні атоми карбону. Отже, сполуки можуть існувати в різних енантіомерних сумішах.

15 В утіленні винаходу сполуки формули I, II, або III, або їх фармацевтично прийнятні солі є енантіомерно збагаченими енантіомером, де всі з хіральних карбонів згідно з указаним вище параграфом є в S-конфігурації. Взагалі, зрозуміло, що посилання на енантіомерно збагачену сполуку або сіль означає, що конкретний енантіомер містить більше 50% за масою від загальної маси всіх енантіомерів сполуки або солі. Приклад сполуки із чотирма хіральними карбонами в S-конфігурації приведено нижче.



20 В утіленні винаходу кожне X є ідентичним.

В утіленні винаходу кожний з усіх R – H або всі R – дейтерії (D). Іншими словами, в утіленні винаходу кожна група CRR у спіро є CH_2 , або кожна група CRR у спіро є CD_2 . Дейтерій звичайно є присутнім у дуже малих кількостях у гідрогенових сполуках. При позначенні замісника як дейтерій або D природну кількість дейтерію слід підвищувати, щоб у порівнянні з H більше половини цього конкретного замісника була D.

В утіленні винаходу не більше 2 R – метил.

В утіленні винаходу в сполуках формули III, коли групи R^3 утворюють спіро-кілець на кожному насиченому кільці, яке містить нітроген, кожен з названих спіро-груп зв'язано з тим самим взаємним атомом карбону в кожному насиченому кільці, яке містить нітроген.

30 Фармацевтично прийнятні солі можна отримувати добре відомими в рівні техніки способами. Придатні солі охоплюють описані, наприклад, у P. Heinrich Stahl, Camille G. Wermuth (eds.), handbook of Pharmaceutical Salts properties, selection, та Use; 2002. Дивись також, WO 2009/020828 (Kimet. Al), де описано отримання кристалічних солей деяких протівірусних сполук. Переважні солі охоплюють солі HCl, наприклад сіль ді-HCl, та сульфатні солі.

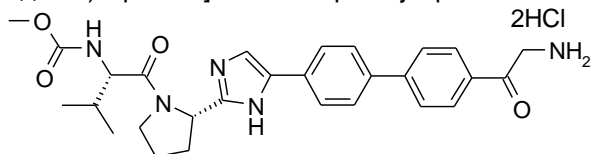
Сполуки та солі винаходу можна застосовувати як такі або в комбінації з одним або більше іншими терапевтичними засобами. У ще одному аспекті терапевтичний засіб вибрано з Standard of Care therapies, як-то інтерферон/рибофлавін, інгібітори реплікації малої молекули HCV (звичайно щодо безпосередньої протівірусної дії). Придатні комбіновані лікування описано, наприклад у WO 2008/064218 (Leivers et. al), WO 2008/244380 (Bachand et. al), та US 2009/0068140 (Bachand et. al). Ці посилання також містять важливе розкриття стосовно шляхів застосування та іншу інформацію стосовно того як отримувати, розробляти рецептуру та застосовувати сполуки.

Таблицю скорочень, застосованих у експериментальному розділі, надано нижче.

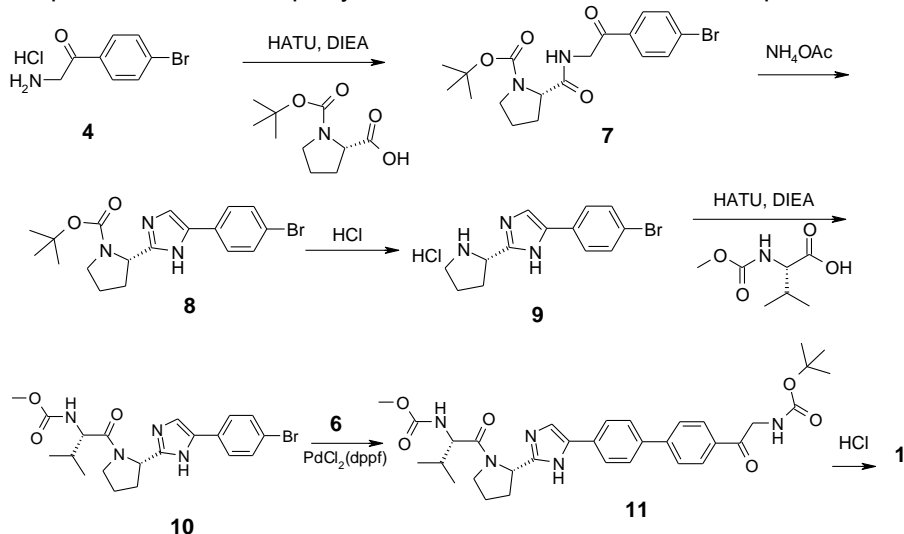
| | | |
|----------|---|--|
| ДХМ | - | Дихлорметан |
| ДМФ | - | N,N-диметилформамід |
| НАТУ | - | (O-7-азабензотриазол-1-іл)-N,N,N',N'-тетраметилуроніум гексафлуорофосфат) |
| ЕР РХ-МС | - | Електророзпилювальна рідинна хроматографія Мас-спектроскопія |
| ТГФ | - | Тетрагідрофуран |
| DIEA | - | діізопропілетиламін |

| | | |
|-------------------------|---|--|
| DMCO | - | диметилсульфоксид |
| DME | - | диметиоксиетан |
| TEA | - | триетиламін |
| Pd(dppf)Cl ₂ | - | комплекс 1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен-паладій(II)дихлорид |
| Десс-Мартин | - | Десс-Мартин періодинан |
| ВРМС | - | Мас-спектрометрія високого розділення |

Інтермедіат 1: метил {(1S)-1-[[[(2S)-2-{4-[4'-(аміноацетил)-4-біфеніліл]-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл]-2-метилпропіл}карбамат

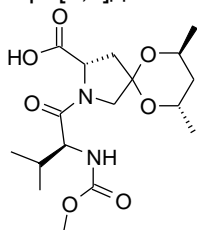


5 Інтермедіат 1 можна отримувати як показано нижче на схемі реакції.

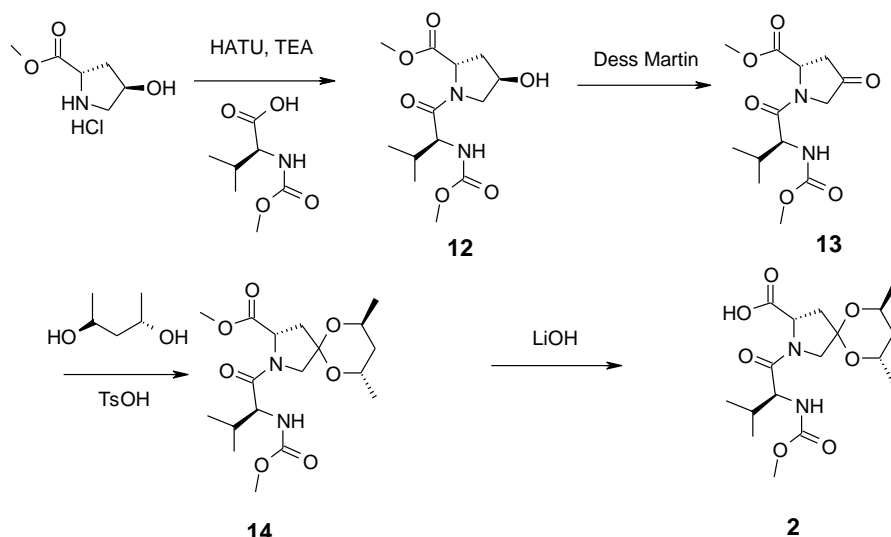


Розчин 1,1-диметилетил[2-(4'-{2-[[[(2S)-1-((2S)-3-метил-2-[[[(метилокси)карбоніл]аміно}бутаноіл]-2-піролідиніл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл]-2-оксоетил}карбамату (інтермедіат 11) (3,8 г, 6,3 ммол) у ДХМ (40 мл) обробляли HCl (10 мл, 4М у діоксані), що дало метил {(1S)-1-[[[(2S)-2-{4-[4'-(аміноацетил)-4-біфеніліл]-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл]-2-метилпропіл}карбамат (інтермедіат 1) як світлу жовту тверду речовину (3,5 г, кількісн.).

Інтермедіат 2: (3S,7S,9S)-7,9-диметил-2-{N-[[[(метилокси)карбоніл]-L-валіл]-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонова кислота

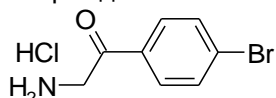


15 Інтермедіат 2 можна отримувати як показано в схемі реакції нижче.



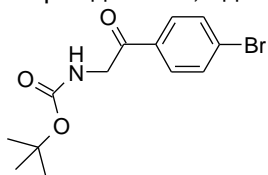
До перемішаного розчину метил (3S,7S,9S)-7,9-диметил-2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонату (інтермедіат 14) (360 мг, 0,932 ммол) у змішаних розчинниках ТГФ (4 мл), т-бутанолу (1 мл) та води (1 мл) додавали LiOH (44 мг, 1,86 ммол). Отриману суміш перемішували протягом 2 год. при к.т. перед підкислюванням 1N HCl, приблизно, до pH 3 і потім розбавляли етилацетатом (100 мл). Розчин промивали розсоллом. Органічний шар сушили над Na₂SO₄, фільтрували та випаровували, що дало (3S,7S,9S)-7,9-диметил-2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонову кислоту (інтермедіат 2) (315 мг, вихід: 91%) як тверду речовину. ЕР PX-MC m/z = 373 (M+H)⁺.

Інтермедіат 4: 2-аміно-1-(4-бромовеніл)етанон



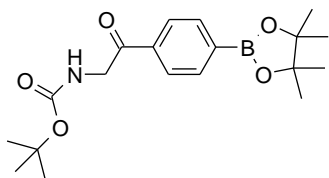
До перемішаного розчину 2-бromo-1-(4-бромовеніл)етанону (130 г 0,478 мол) у толуолі (2500 мл) додавали гексаметилентетрамін (65,6 г 0,478 мол). Суміш перемішували при 40 °C протягом 16 год. Отриману тверду речовину відфільтровували та промивали толуолом та етером, що дало білу тверду речовину. До перемішаної суспензії цієї білої твердої речовини в етанолі (800 мл) додавали концентровану хлоридну кислоту (300 мл). Суміш перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 20 год. Тверду речовину збирали фільтруванням та промивали етанолом і водою та сушили у вакуумі, що дало 2-аміно-1-(4-бромовеніл)етанон (4) (95 г, вихід: 92%) як білу тверду речовину, яку застосовували без очищення в наступному етапі. ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ мн⁻¹ 8,58 (s, br, 2H), 7,96 (d, J = 8,7 Гц, 2H), 7,81 (d, J = 8,7 Гц, 2H), 4,48-4,52 (m, 2H). ЕР PX-MC m/z = 214, 216 (M+H)⁺.

Інтермедіат 5: 1,1-диметилетил [2-(4-бромовеніл)-2-оксоетил]карбамат

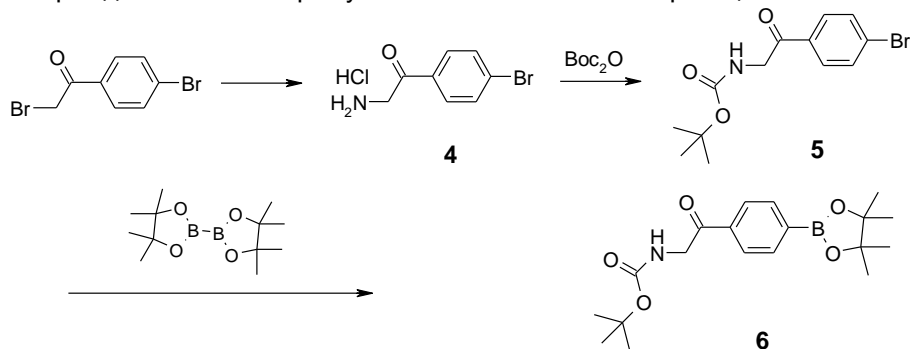


До суміші 2-аміно-1-(4-бромовеніл)етанон гідрогенхлориду (інтермедіат 4) (50 г, 0,2 мол), Вos₂O (48 г, 0,22 мол) у ДХМ (1000 мл) краплями додавали TEA (68,8 мл, 0,5 мол) при 0 °C. Після додавання отриману суміш перемішували при температурі навколишнього середовища протягом ночі та фільтрували. Відфільтроване промивали 1 N HCl (300 мл×3) і розсоллом, сушили над Na₂SO₄, концентрували у вакуумі, що дало не зовсім білу тверду речовину, яку потім промивали петролейним етером, що дало 1,1-диметилетил [2-(4-бромовеніл)-2-оксоетил]карбамат (інтермедіат 5) (40 г, вихід: 64%). ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ мн⁻¹ 7,83 (d, J = 8,7 Гц, 2H), 7,65 (d, J = 8,7 Гц, 2H), 5,48 (s, br, 1H), 4,60-4,62 (m, 2H), 1,49 (s, 9H). ЕР PX-MC m/z = 336 (M+Na)⁺.

Інтермедіат 6: 1,1-диметилетил{2-оксо-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксборолан-2-іл)феніл]етил}карбамат

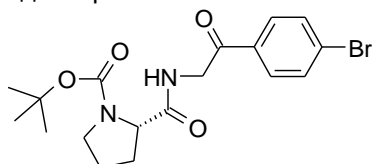


Інтермедіат 6 можна отримувати як показано в схемі реакції нижче.



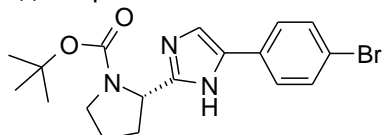
5 Pd(dppf)Cl₂ (2,6 г, 3,18 ммол) додавали до суміші 1,1-диметилетил [2-(4-бромовеніл)-2-оксоетил]карбамату (інтермедіат 5) (20 г, 63,7 ммол), біс(пінаcolato)дибору (19,4 г, 76,4 ммол) та KOAc (24,8 г, 0,254 мол) у діоксані (300 мл), колбу промивали азотом (3х) та нагрівали до 80 °С протягом 16 год. під атмосферою азоту. Реакційну суміш розбавляли гексаном (300 мл), фільтрували, концентрували та залишок очищували хроматографією на силікагелі (петролейний етер / етилацетат = 5/1), що дало 1,1-диметилетил{2-оксо-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксобо-
10 ролан-2-іл)феніл]етил}аміно}карбонат (інтермедіат 6) (13,3 г, вихід: 58%) як білу тверду речовину. ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ мн⁻¹ 7,90-7,93 (m, 4H), 5,55 (s, br, 1H), 4,68 (s, 2H), 1,48 (s, 9H), 1,35 (s, 12H). ЕР PX-MC m/z = 384 (M+Na)⁺.

Інтермедіат 7: 1,1-диметилетил(2S)-2-([2-(4-бромовеніл)-2-оксоетил]аміно)карбоніл)-1-піролідінкарбонат



15 Суміш 1-[[1,1-диметилетил]окси]карбоніл]-L-піроліну (50 г, 0,233 мол), НАТУ (106 г, 0,279 мол) та DIEA (150 мл) у ДМФ (400 мл) перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 10 хвил. Додавали 2-аміно-1-(4-бромовеніл)етанон гідрогенхлорид (інтермедіат 4) (70 г, 0,279 мол) у ДМФ (500 мл) та отриману суміш перемішували протягом ночі перед розбавленням EtOAc (4L). Розчин промивали 1N HCl (500 мл × 4) і розсоллом, сушили над Na₂SO₄, концентрували. Сирий продукт рекристалізували зі суміші петролейного етеру / етилацетату (2/1), що дало 1,1-диметилетил(2S)-2-([2-(4-бромовеніл)-2-оксоетил]аміно)карбоніл)-1-піролідінкарбонат (інтермедіат 7) (58,4 г, вихід: 61%) як жовту
20 тверду речовину. ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO) δ мн⁻¹ 8,22 (s, 1H), 7,93 (d, J = 8,4 Гц, 2H), 7,77 (d, J = 8,4 Гц, 2H), 4,46-4,51 (m, 2H), 4,15-4,21 (m, 1H), 3,28-3,40 (m, 2H), 1,78-1,90 (m, 4H), 1,29-1,41 (m, 9H). ЕР PX-MC m/z = 411,1, 4113,1 (M+H)⁺.

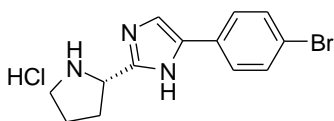
Інтермедіат 8: 1,1-диметилетил(2S)-2-[4-(4-бромовеніл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідінкарбонат



30 Суміш 1,1-диметилетил(2S)-2-([2-(4-бромовеніл)-2-оксоетил]аміно)карбоніл)-1-піролідінкарбонату (7) (40,0 г, 97,2 ммол) та NH₄OAc (60 г, 0,778 мол) у ксилені (400 мл) нагрівали до 150 °С протягом 5 год. у герметичному реакторі. Реакційну суміш концентрували, та залишок розчиняли у EtOAc (500 мл) та промивали водн. NaHCO₃ і розсоллом. Органічну фазу сушили над Na₂SO₄, концентрували до сухого стану. Сирий продукт очищували хроматографією на силікагелі (петролейний етер / етилацетат = 1/1), що дало 1,1-диметилетил(2S)-2-[4-(4-бромовеніл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідінкарбонат (інтермедіат 8) (34 г, вихід: 89%) як
35

коричневу тверду речовину. ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ млн $^{-1}$ 7,52 (d, J = 8,4 Гц, 2H), 7,46 (d, J = 8,4 Гц, 2H), 7,20(s, 1H), 5,58-5,71 (m, 1H), 3,38-3,42 (m, 1H), 2,80-2,87 (m, 2H), 2,03-2,06 (m, 2H), 1,88-2,00 (m, 2H), 1,49 (s, 9H). ЕР РХ-МС m/z = 392, 394 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Інтермедіат 9: 4-(4-бромовеніл)-2-[(2S)-2-піролідиніл]-1H-імідазол



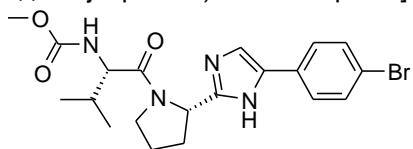
5

1,1-Диметилетил(2S)-2-[4-(4-бромовеніл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідинкарбонат (інтермедіат 8) (72,4 г, 185 ммол) обробляли насичен. HCl у діоксані (200 мл), та перемішували при температурі навколишнього середовища протягом ночі. Отриману тверду речовину фільтрували та промивали петролейним етером, що дало 4-(4-бромовеніл)-2-[(2S)-2-піролідиніл]-1H-імідазол (інтермедіат 9) (60 г, вихід: 90%) як жовту тверду речовину. ^1H ЯМР (300 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ млн $^{-1}$ 8,10 (s, 2H), 7,88 (d, J = 6,6 Гц, 2H), 7,70 (d, J = 6,6 Гц, 2H), 7,49 (s, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,16 (s, 1H), 4,50-4,52 (m, 1H), 3,15-3,40 (m, 2H), 1,88-2,88 (m, 4H). ЕР РХ-МС m/z = 291,1, 293,1 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

10

Інтермедіат 10: метил[(1S)-1-((2S)-2-[4-(4-бромовеніл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл]-2-метилпропіл]карбамат

15

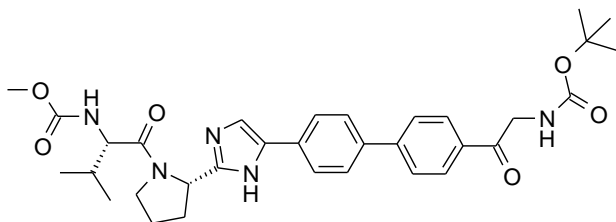


N-[(метилокси)карбоніл]-L-валін (43,1 г, 0,246 мол) та HATU (93,5 г, 0,246 мол) у ДХМ (1000 мл) перемішували протягом 10 хвил. Уводили 4-(4-бромовеніл)-2-[(2S)-2-піролідиніл]-1H-імідазол (інтермедіат 9) (60 г, 0,205 мол). а потім – краплями DIEA (82,6 мл, 0,308 мол). Суміш перемішували при температурі навколишнього середовища протягом ночі перед розбавленням ДХМ (1000 мл) та промивали водн. NaHCO_3 і розсол. Органічну фазу сушили над Na_2SO_4 , концентрували до сухого стану. Сирий продукт очищували хроматографією на силікагелі (петролейний етер / етилацетат = 1/1), що дало метил[(1S)-1-((2S)-2-[4-(4-бромовеніл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл]-2-метилпропіл]карбамат (інтермедіат 10) (62 г, вихід: 67%) як жовту тверду речовину. ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ : 7,43-7,51 (m, 4H), 7,17 (s, 1H), 5,53-5,57 (m, 1H), 5,20-5,22 (m, 1H), 5,29-5,33 (m, 1H), 3,64-3,71 (m, 5H), 2,99-3,03 (m, 1H), 1,88-2,31 (m, 4H), 0,88-0,92 (m, 6H). ЕР РХ-МС m/z = 449, 451 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

20

25

Інтермедіат 11: 1,1-диметилетил[2-(4'-[2-[(2S)-1-((2S)-3-метил-2-[(метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл)-2-піролідиніл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніл)-2-оксоетил]карбамат



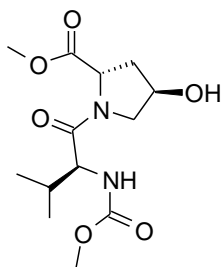
30

До суміші метил[(1S)-1-((2S)-2-[4-(4-бромовеніл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл]-2-метилпропіл]карбамату (інтермедіат 10) (62 г, 0,138 мол), 1,1-диметилетил {2-оксо-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксборолан-2-іл)феніл]етил}карбамату (інтермедіат 6) (47,7 г, 0,152 мол) та NaHCO_3 (34,2 г, 0,414 мол) у суміші DME (800 мл) та води (260 мл) додавали $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (5,63 г, 6,9 ммол). Перед нагріванням до 80 $^\circ\text{C}$ протягом 16 год. колбу промивали азотом (3X). Реакцію охолоджували до к.т. та фільтрували. Фільтрат розбавляли EtOAc (1000 мл), та розчин промивали водн. NaHCO_3 і розсол, сушили над Na_2SO_4 , концентрували. Залишок очищували хроматографією на силікагелі (петролейний етер / етилацетат = 1/2), що дало 1,1-диметилетил[2-(4'-[2-[(2S)-1-((2S)-3-метил-2-[(метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл)-2-піролідиніл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніл)-2-оксоетил]карбамат (інтермедіат 11) (45 г, вихід: 54%) як жовту тверду речовину. ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ млн $^{-1}$ 8,03 (d, J = 8,4 Гц, 2H), 7,88-7,60 (m, 6H), 5,58 (s, br, 1H), 5,42 (m, 1H), 5,28-5,30 (m, 1H), 4,71 (s, 2H), 4,32-4,35 (m, 1H), 3,70-3,84 (m, 5H), 2,96 (s, br, 1H), 1,96-2,11 (m, 4H), 1,49 (s, 9H), 0,88-0,92 (m, 6H). ЕР РХ-МС m/z = 604, ($\text{M}+\text{H}$) $^+$;

40

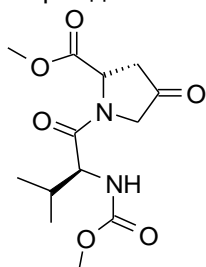
Інтермедіат 12: метил N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл-(4R)-4-гідрокси-L-пролінат

45



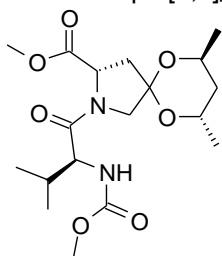
До перемішаного розчину N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіну (2,89 г, 16,52 ммол) у ДХМ додавали ТЕА (3,51 г, 34,7 ммол) та НАТУ (3 г, 16,52 ммол). Після, приблизно, 10 хвил. перемішування вводили метил (4R)-4-гідрокси-L-пролінат гідрогенхлорид (3 г, 16,52 ммол).
 5 Отриману суміш перемішували протягом додаткових 4 год. при к.т. перед гасінням NaHCO_3 (сусп.). Шари відокремлювали та водний шар екстрагували ДХМ (2х). Поєднану органічну фазу сушили над Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували. Сирий продукт очищували хроматографією на колонці (силікагель, 0 – 70% етилацетат у гексані), що дало метил N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл-(4R)-4-гідрокси-L-пролінат (інтермедіат 12) (3,5 г, вихід: 70%). ^1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ млн $^{-1}$ 5,34 - 5,54 (m, 1 H) 4,69 (t, J=8,41 Гц, 1 H) 4,55 (br. s., 1 H) 4,21 (s, 1 H) 3,92 - 4,08 (m, 1 H) 3,74 (s, 4 H) 3,66 (s, 3 H) 2,29 - 2,50 (m, 1 H) 1,92 - 2,19 (m, 2 H) 0,86 - 1,13 (m, 6 H). ЕР РХ-МС m/z = 303,5 (M+H) $^{+}$.

Інтермедіат 13: метил N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл-4-оксо-L-пролінат



До перемішаного розчину N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл-(4R)-4-гідрокси-L-пролінату (інтермедіат 12) (3,5 г, 11,9 ммол) у ДХМ (80 мл) додавали Десс-Мартин (10 г) при к.т. Отриману суміш перемішували протягом додаткових 4 год. перед гасінням 5% водн. натрій тіосульфатом (350 мл) а потім – насич. NaHCO_3 (200 мл). Перемішування продовжували протягом 10 хвил. та суміш екстрагували ДХМ (2 x 300 мл). Органічний шар сушили над MgSO_4 , фільтрували та концентрували. Сирий продукт очищували хроматографією на колонці (силікагель, 0 – 70% етилацетат у гексані), що дало метил N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл-4-оксо-L-пролінат (інтермедіат 13) (701 мг, вихід: 20%). ^1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ млн $^{-1}$ 5,25 (d, J=9,18 Гц, 1 H) 5,07 (dd, J=10,74, 2,93 Гц, 1 H) 4,36 (d, J=17,77 Гц, 1 H) 3,97 - 4,23 (m, 2 H) 3,69 - 3,77 (m, 3 H) 3,63 (s, 3 H) 2,92 (dd, J=18,94, 10,74 Гц, 1 H) 2,62 (dd, J=18,94, 2,73 Гц, 1 H) 2,01 (t, J=3,32 Гц, 1 H) 0,86 - 1,16 (m, 6 H).

Інтермедіат 14: метил(3S,7S,9S)-7,9-диметил-2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонат

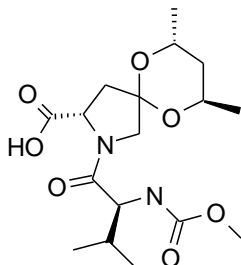


Метил N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл-4-оксо-L-пролінат (інтермедіат 13) (650 мг, 2,164 ммол), (2S,4S)-2,4-пентандіол (902 мг, 8,66 ммол) та TsOH (82 мг, 0,43 ммол) нагрівали під дефлегматором у толуолі (40 мл) з уловлювачем Дин Штарка протягом ночі. Після охолоджували до к.т. та розбавляли етилацетатом, отриманий розчин промивали NaHCO_3 (сусп.) і розсоллом. Органічне потім сушили над MgSO_4 , фільтрували та випаровували. Сирий продукт очищували хроматографією на колонці (силікагель, 0 – 50% етилацетат у гексані), що дало метил (3S,7S,9S)-7,9-диметил-2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонат (інтермедіат 14) (366 мг, вихід: 44%) як олію. ^1H ЯМР (400 МГц,

ХЛОРОФОРМ-d) δ млн⁻¹ 5,38 - 5,51 (m, 1 H) 4,54 (t, J=8,03 Гц, 1 H) 4,25 - 4,36 (m, 1 H) 3,91 - 4,05 (m, 2 H) 3,85 (d, J=10,04 Гц, 1 H) 3,54 - 3,77 (m, 6 H) 2,46 - 2,53 (m, 1 H) 2,12 (dd, J=12,92, 7,65 Гц, 1 H) 2,00 - 2,06 (m, 1 H) 1,54 - 1,75 (m, 3 H) 1,10 - 1,25 (m, 6 H) 1,03 (d, J=6,78 Гц, 3 H) 0,84 - 0,96 (m, 3 H). ЕР PX-MC m/z =409,3 (M+Na)⁺.

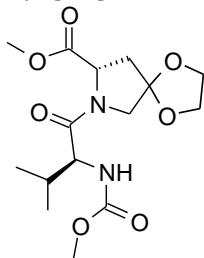
5 Інтермедіати 15 та 17 отримували, застосовуючи процедури, подібні описаним у отриманні інтермедіату 2:

Інтермедіат 15: (3S,7R,9R)-7,9-диметил-2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонова кислота



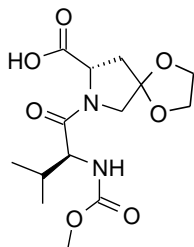
10 ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ млн⁻¹ 12,53 (br. s., 1 H), 7,49 (d, 1H), 4,34 (d, 1H), 4,24 (t, 1H), 4,06 (br. m, 2H), 3,93 (t, 1H), 3,37 (m, 4H), 2,35 (m, 1H), 2,09-1,86 (br. m, 2H), 1,59 (m, 2H), 1,17 (m, 6H), 0,91 (m, 6H).

Інтермедіат 16: метил(8S)-7-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-1,4-діокса-7-азаспіро[4,4]нонан-8-карбонат



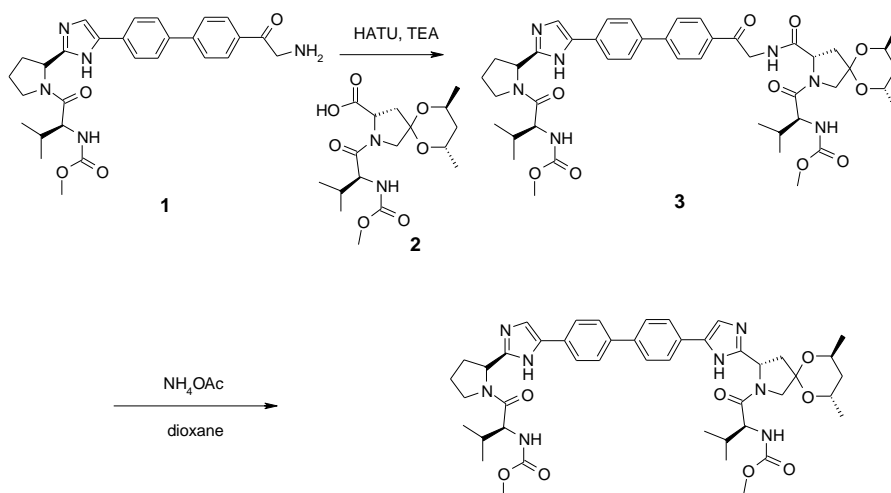
15 ЕР PX-MC m/z =345,3 (M+H)⁺.

Інтермедіат 17: (8S)-7-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-1,4-діокса-7-азаспіро[4,4]нонан-8-карбонова кислота



20 ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ млн⁻¹ 12,56 (br. s., 1 H) 7,40 (d, J=8,39 Гц, 1 H) 4,33 (dd, J=8,78, 7,02 Гц, 1 H) 3,81 - 4,10 (m, 5 H) 3,41 - 3,66 (m, 5 H) 2,28 - 2,43 (m, 1 H) 1,94 - 2,11 (m, 1 H) 1,74 - 1,94 (m, 1 H) 0,67 - 1,05 (m, 6 H). ЕР PX-MC m/z =331,6 (M+H)⁺.

25 Приклад 1: метил[(1S)-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(3S,7S,9S)-7,9-диметил-2-((2S)-3-метил-2-[(метилокси)карбоніл]аміно}бутаноіл)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл)-2-метилпропіл]карбамат

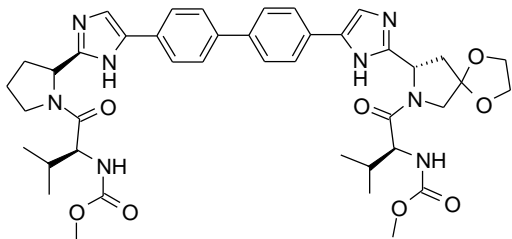


Example 1

До перемішаного розчину ((3S,7S,9S)-7,9-диметил-2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонової кислоти (інтермедіат 2) (96 мг, 0,258 ммол) у ДМФ (2 мл) додавали TEA (78 мг, 0,773 ммол) та HATU (108 мг, 0,284 ммол). Після, приблизно, 3 хвил. перемішування вводили метил {(1S)-1-[(2S)-2-{4-[4'-(аміноацетил)-4-біфеніл]-1H-імідазол-2-іл}-1-піролідиніл)карбоніл]-2-метилпропіл}карбамат дигідрогенхлорид (інтермедіат 1) (149 мг, 0,258 ммол). Після перемішування протягом додаткових 2 год. при к.т. суміш завантажували безпосередньо до РФ ВЕРХ, елюючи 5 – 80 % ацетонітрилом/ водою (0,2 % $\text{NH}_3\text{H}_2\text{O}$ (конц.)), що дало метил[(1S)-1-[(2S)-2-[4-(4'-{2-[(3S,7S,9S)-7,9-диметил-2-((2S)-3-метил-2-[(метилокси)карбоніл]аміно)бутаноіл]-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніл]-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл]-2-метилпропіл}карбамат (інтермедіат 3) як тверду речовину (135 мг, вихід: 61%). ^1H ЯМР (400 МГц, CH_2Cl_2 -d) δ мн $^{-1}$ 10,40 - 11,01 (m, 1 H) 7,32 - 8,30 (m, 10 H) 5,28 (br. s., 2 H) 4,53 - 4,96 (m, 4 H) 4,17 - 4,53 (m, 1 H) 3,40 - 4,17 (m, 11 H) 2,83 - 3,22 (m, 1 H) 2,26 - 2,74 (m, 3 H) 1,54 - 2,26 (m, 8 H) 0,47 - 1,43 (m, 18 H). ЕР РХ-МС m/z = 858,6 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

До перемішаного розчину метил[(1S)-1-[(2S)-2-[4-(4'-{2-[(3S,7S,9S)-7,9-диметил-2-((2S)-3-метил-2-[(метилокси)карбоніл]аміно)бутаноіл]-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніл]-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл]-2-метилпропіл}карбамату (інтермедіат 3) (135 мг, 0,157 ммол) у діоксані (3 мл) додавали амоній ацетат (121 мг, 1,57 ммол). Реакційну суміш нагрівали до 110 °C у герметизованій трубці протягом ночі. Охолоджували до к.т., відфільтровували надлишок амоній ацетату. Фільтрат випаровували та залишок очищували хроматографією на колонці (силікагель, 0 – 15% метанол у етилацетат), що дало метил[(1S)-1-[(2S)-2-[4-(4'-{2-[(3S,7S,9S)-7,9-диметил-2-((2S)-3-метил-2-[(метилокси)карбоніл]аміно)бутаноіл]-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніл]-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл]-2-метилпропіл}карбамат (приклад 1) як тверду речовину (81 мг, вихід: 58%). ^1H ЯМР (400 МГц, CH_2Cl_2 -d) δ мн $^{-1}$ 10,23 - 11,01 (m, 1 H) 7,31 - 8,08 (m, 8 H) 7,23 (d, J=8,03 Гц, 2 H) 5,13 - 5,89 (m, 4 H) 3,34 - 4,69 (m, 13 H) 2,84 - 3,31 (m, 2 H) 2,63 - 2,84 (m, 1 H) 2,29 - 2,53 (m, 1 H) 1,85 - 2,29 (m, 4 H) 1,56 - 1,85 (m, 4 H) 1,16 - 1,47 (m, 6 H) 0,63 - 1,16 (m, 12 H). ВРМС: ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ розраховано: 835,4456; знайдено: 835,4458.

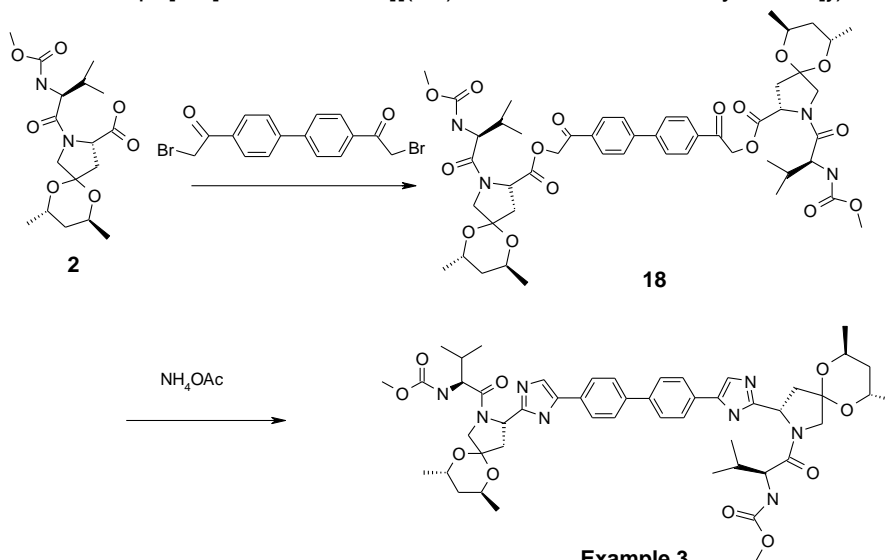
Приклад 2: метил[(1S)-2-метил-1-[(2S)-2-[4-(4'-{2-[(8S)-7-((2S)-3-метил-2-[(метилокси)карбоніл]аміно)бутаноіл]-1,4-діокса-7-азаспіро[4,4]нон-8-іл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніл]-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл]пропіл}карбамат



Метил[(1S)-2-метил-1-[(2S)-2-[4-(4'-{2-[(8S)-7-((2S)-3-метил-2-[(метилокси)карбоніл]аміно)бутаноіл]-1,4-діокса-7-азаспіро[4,4]нон-8-іл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніл]-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл]пропіл}карбамат отримували з (8S)-7-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-1,4-діокса-7-азаспіро[4,4]нон-8-карбонової кислоти (інтермедіат 17) та метил {(1S)-1-

[[((2S)-2-{4-[4'-(аміноацетил)-4-біфеніліл]-1H-імідазол-2-іл}-1-піролідиніл)карбоніл]-2-метилпропіл}карбамату дигідрогенхлориду (інтермедіат 1), а потім – синтетичні процедури в два етапи, подібні описаним у прикладі 1. ^1H ЯМР (400 МГц, CH_2Cl_2 -d) δ млн $^{-1}$ 10,00 - 11,36 (m, 2 H) 7,56 (br. s., 10 H) 7,02 - 7,34 (m, 2 H) 5,05 - 5,89 (m, 4 H) 3,76 - 4,65 (m, 6 H) 3,53 - 3,83 (m, 6 H) 2,77 - 3,54 (m, 2 H) 2,26 - 2,70 (m, 2 H) 1,45 - 2,26 (m, 6 H) 0,61 - 1,25 (m, 12 H). ВРМС: (M+H) $^+$ розраховано: 797,3986; знайдено: 797,3981.

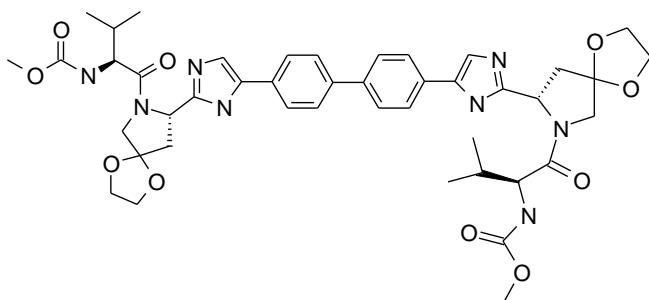
Приклад 3: диметил (4,4'-біфенілдіілбіс{1H-імідазол-4,2-дііл(3S,7S,9S)-7,9-диметил-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-3,2-дііл}[(2S)-3-метил-1-оксо-1,2-бутандііл]))біскарбамат



Під атмосферою N_2 до перемішуваної суспензії 1,1'-(4,4'-біфенілдііл)біс(2-бромоетанон) (113 мг, 0,285 ммол, отриманий згідно із процедурами запропонованими в WO 2009020825) у ацетонітрилі (5 мл) додавали (3S,7S,9S)-7,9-диметил-2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонову кислоту (інтермедіат 2) (212 мг, 0,571 ммол), а потім додавали TEA (57,5 мг, 0,571 ммол). Суміш перемішували при 50 $^{\circ}\text{C}$ поки суспензія ставала прозорою. Після це охолоджували до к.т., реакційну суміш розбавляли етилацетатом та промивали розсолем. Органічну фазу сушили над MgSO_4 , фільтрували та випаровували, що дало 4,4'-біфенілдіілбіс-2-оксо-2,1-етандііл(3S,7S,9S,3'S,7'S,9'S)біс(7,9-диметил-2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонат) (інтермедіат 18) (280 мг, кількісн.). ЕР PX-MC m/z = 979,6 (M+H) $^+$.

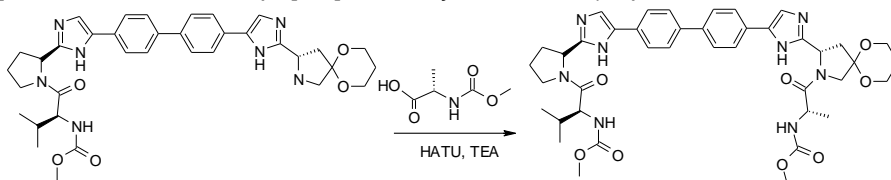
До перемішуваного розчину 4,4'-біфенілдіілбіс-2-оксо-2,1-етандііл(3S,7S,9S,3'S,7'S,9'S)біс(7,9-диметил-2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонату) (інтермедіат 18) (280 мг, 0,286 ммол) у діоксані (5 мл) у герметизованій трубці додавали амоній ацетат (441 мг, 5,72 ммол). Реакційну суміш нагрівали до 110 $^{\circ}\text{C}$ протягом ночі. Охолоджували до к.т., відфільтровували надлишок амоній ацетату. Фільтрат випаровували та залишок очищували на колонці (силікагель, 0 –15% метанол у етилацетаті), що дало диметил (4,4'-біфенілдіілбіс{1H-імідазол-4,2-дііл(3S,7S,9S)-7,9-диметил-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-3,2-дііл}[(2S)-3-метил-1-оксо-1,2-бутандііл]))біскарбамат (приклад 3) як тверду речовину (112 мг, вихід: 40%). ^1H ЯМР (400 МГц, CH_2Cl_2 -d) δ млн $^{-1}$ 10,30 - 10,99 (m, 2 H) 7,68 - 8,00 (m, 2 H) 7,61 (d, J=7,53 Гц, 6 H) 7,26 - 7,35 (m, 4 H) 5,59 (d, J=8,53 Гц, 1 H) 5,23 - 5,39 (m, 1 H) 4,44 (dd, J=8,41, 5,14 Гц, 2 H) 4,02 - 4,23 (m, 4 H) 3,97 (d, J=10,29 Гц, 2 H) 3,72 (s, 6 H) 3,62 (d, J=10,29 Гц, 2 H) 3,04 - 3,32 (m, 2 H) 2,70 (d, J=13,05 Гц, 2 H) 1,93 (br. s., 2 H) 1,56 - 1,82 (m, 4 H) 1,13 - 1,46 (m, 12 H) 0,60 - 1,02 (m, 12 H). ВРМС: (M+H) $^+$ розраховано: 939,4980; знайдено: 939,4981.

Приклад 4: диметил (4,4'-біфенілдіілбіс{1H-імідазол-4,2-дііл(8S)-1,4-діокса-7-азаспіро[4,4]нонан-8,7-дііл(2S)-3-метил-1-оксо-1,2-бутандііл]))біскарбамат



Диметил (4,4'-біфенілдіілбіс{1H-імідазол-4,2-дііл(8S)-1,4-діокса-7-азаспіро[4,4]нонан-8,7-дііл(2S)-3-метил-1-оксо-1,2-бутандііл}})біскарбамат отримували з 1,1'-(4,4'-біфенілдііл)біс(2-бромоетанону) та (8S)-7-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-1,4-діокса-7-азаспіро[4,4]нонан-8-карбонової кислоти (інтермедіат 17) застосовуючи спосіб, подібний процедурам у два етапи, описаним у прикладі 3. ¹H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ млн⁻¹ 11,10 - 11,23 (m, 1 H) 10,10 - 11,63 (m, 2 H) 7,40 - 8,15 (m, 8 H) 7,27 - 7,40 (m, 2 H) 5,23 - 5,88 (m, 2 H) 4,31 (dd, J=8,68, 6,54 Гц, 2 H) 3,83 - 4,21 (m, 10 H) 3,57 - 3,83 (m, 6 H) 3,05 - 3,46 (m, 3 H) 2,47 (dd, J=13,46, 8,59 Гц, 2 H) 1,51 - 2,20 (m, 2 H) 1,08 (d, J=6,83 Гц, 2 H) 0,60 - 0,97 (m, 12 H). ВРМС: (M+H)⁺ розраховано: 855,4041; знайдено: 855,4039.

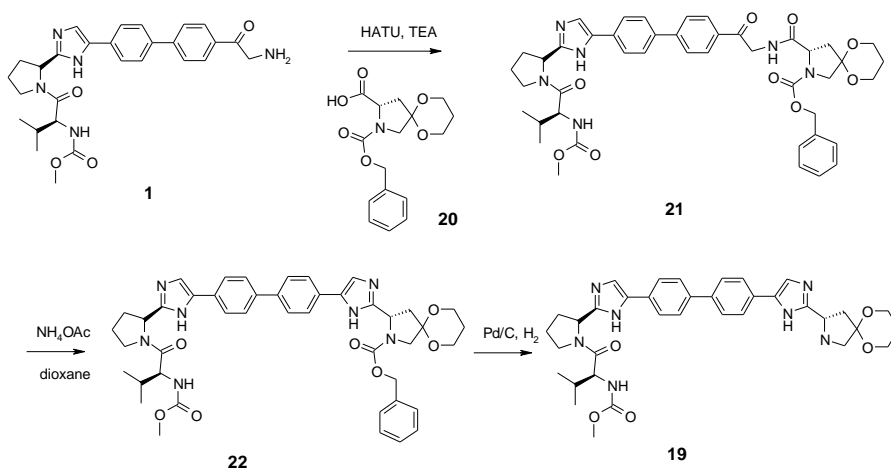
Приклад 5: метил((1S)-1-метил-2-((3S)-3-[4-(4'-{2-((2S)-1-((2S)-3-метил-2-((метилокси)карбоніл)аміно)бутаноіл)-2-піролідиніл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніл)-1H-імідазол-2-іл]-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]дец-2-іл)-2-оксоетил)карбамат



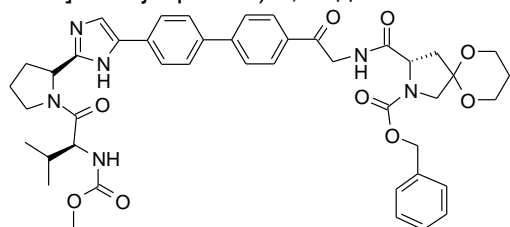
До перемішаного розчину N-[(метилокси)карбоніл]-L-аланіну (22,5 мг, 0,153 ммол, отриманого згідно із процедурою, запропонованою в WO 2003055474), у ДМФ (2 мл) додавали ТЕА (15,5 мг, 0,153 ммол) та HATU (58,2 мг, 0,153 ммол). Після, приблизно, 3 хвил. перемішування вводили метил[(1S)-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-((3S)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл)-2-метилпропіл]карбамат (приклад 19) (100 мг, 0,153 ммол). Після перемішування протягом додаткових 2 год. при к.т. реакційну суміш завантажували безпосередньо до РФ ВЕРХ, елюючи 5 - 80 % ацетонітрилом/водою (0,2 % NH₃H₂O(конц.)), що дало метил((1S)-1-метил-2-((3S)-3-[4-(4'-{2-((2S)-1-((2S)-3-метил-2-((метилокси)карбоніл)аміно)бутаноіл)-2-піролідиніл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніл)-1H-імідазол-2-іл]-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]дец-2-іл)-2-оксоетил)карбамат (приклад 5) як тверду речовину (36 мг, вихід: 29%). ¹H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ млн⁻¹ 10,04 - 11,11 (m, 2 H) 7,37 - 8,02 (m, 8 H) 7,18 - 7,36 (m, 2 H) 5,60 (br. s., 2 H) 5,17 - 5,40 (m, 2 H) 3,17 - 4,73 (m, 14 H) 2,79 - 3,19 (m, 1 H) 2,45 - 2,81 (m, 1 H) 2,29 - 2,45 (m, 1 H) 1,49 - 2,29 (m, 8 H) 1,22 - 1,47 (m, 3 H) 0,73 - 1,16 (m, 6 H). ВРМС: (M+H)⁺ розраховано: 783,3830; знайдено: 783,3832.

Інтермедіат 19: Отримання метил[(1S)-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-((3S)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл)-2-метилпропіл]карбамат

Інтермедіат 19 можна отримувати як показано в схемі реакції нижче.

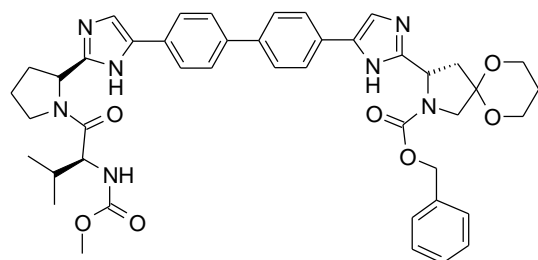


Інтермедіат 21: **фенілметил(3S)-3-({[2-(4'-{2-[(2S)-1-((2S)-3-метил-2-((метилокси)карбоніл)аміно}бутаноіл)-2-піролідиніл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-2-оксоетил]аміно}карбоніл)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-2-карбонат**



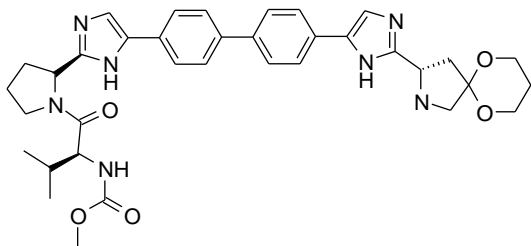
До перемішаного розчину (3S)-2-{{(фенілметил)окси}карбоніл}-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонової кислоти (інтермедіат 20) (878 мг, 2,73 ммол) у ДМФ (10 мл) додавали TEA (829 мг, 8,20 ммол) та HATU (1039 мг, 2,73 ммол). Після, приблизно, 3 хвил. перемішування додавали метил[(1S)-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(3S)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл}карбоніл)-2-метилпропіл]карбамат (інтермедіат 1) (1575 мг, 2,73 ммол). Отриману суміш перемішували протягом додаткових 2 год. при к.т. перед гасінням NaHCO_3 (сусп.) та екстрагували EtOAc (3х). Комбіновані органічні шари сушили над Na_2SO_4 , фільтрували та випаровували. Сирий продукт очищували хроматографією на колонці (сілікагель, 0 – 6% MeOH (2M аміак) у ДХМ), що дало фенілметил (3S)-3-({[2-(4'-{2-[(2S)-1-((2S)-3-метил-2-{{(метилокси)карбоніл} аміно}бутаноіл)-2-піролідиніл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-2-оксоетил]аміно} карбоніл)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-2-карбонат (інтермедіат 21) як тверду речовину (1,76 г, вихід: 80%). ЕР PX-MC $m/z = 807,5$ ($M+H$)⁺.

Інтермедіат 22: **фенілметил (3S)-3-(4-{4'-[2-((2S)-1-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл)-2-піролідиніл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл}-1H-імідазол-2-іл)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-2-карбонат**



До перемішаного розчину (3S)-3-({[2-(4'-{2-[(2S)-1-((2S)-3-метил-2-{{(метилокси)карбоніл}аміно}бутаноіл)-2-піролідиніл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-2-оксоетил]аміно}карбоніл)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-2-карбонату (інтермедіат 21) (1,76 г, 2,18 ммол) у діоксані (5 мл) у герметизованій трубці додавали амоній ацетат (1,68г, 21,8 ммол). Реакційну суміш нагрівали до 110 °C протягом ночі. Охолоджували до к.т., відфільтровували надлишок амоній ацетату. Фільтрат випаровували та залишок очищували на колонці (сілікагель, 0 –15% метанол у етилацетаті), що дало фенілметил (3S)-3-(4-{4'-[2-((2S)-1-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл)-2-піролідиніл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл}-1H-імідазол-2-іл)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-2-карбонат (інтермедіат 22) (1,44 г, вихід 84%) як піну. ЕР PX-MC $m/z = 788,5$ ($M+H$)⁺.

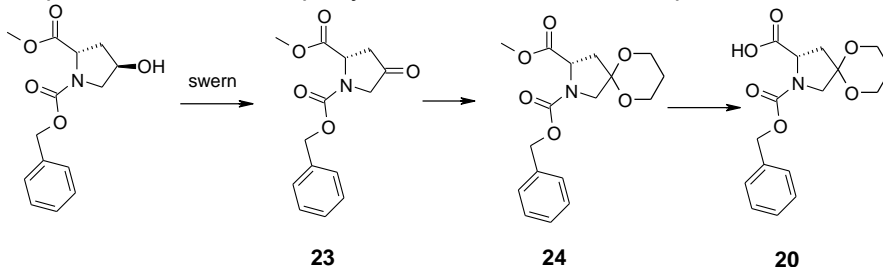
Інтермедіат 19: метил[(1S)-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[(3S)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніл]-1H-імідазол-2-іл)-1-піролідиніл)карбоніл)-2-метилпропіл]карбамат



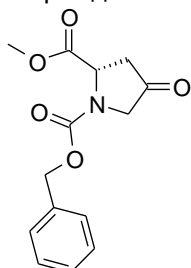
Фенілметил (3S)-3-(4-{4'-[2-((2S)-1-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-2-піролідиніл)-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніл}-1H-імідазол-2-іл)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-2-карбонат (інтермедіат 22) (1,44 г, 1,83 ммол) гідрогенізували в етанолі (100 мл) з балону з каталізатором Pd/C протягом 20 год., що дало метил[(1S)-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[(3S)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніл]-1H-імідазол-2-іл)-1-піролідиніл)карбоніл)-2-метилпропіл]карбамат (інтермедіат 19). ЕР РХ-МС m/z =654,4 ($M+H$)⁺.

Інтермедіат 20: (3S)-2-[(фенілметил)окси]карбоніл]-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонова кислота

Інтермедіат 20 можна отримувати як показано в схемі реакції нижче.



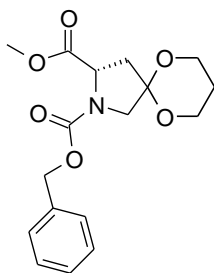
Інтермедіат 23: 2-метил 1-(фенілметил) (2S)-4-оксо-1,2-піролідиндикарбонат



При -78°C до перемішаного розчину оксалілхлориду (5,97 г, 47 ммол) у ДХМ (200 мл) повільно додавали ДМСО (4,8 г, 61,5 ммол). Після 10 хвил. перемішування розчин 2-метил 1-(фенілметил) (2S,4R)-4-гідрокси-1,2-піролідиндикарбонату (10,1 г, 36,2 ммол) у ДХМ (30 мл) переносили до реакційної колби. Перемішування продовжували протягом 60 хвил. перед додаванням триетиламіну (10,98 г, 108 ммол). Охолоджувальну баню потім видаляли та реакційній суміші дозволяли повільно нагріватися до 0°C, та гасили насич. розчином NH₄Cl. Шари відокремлювали, та водний шар екстрагували ДХМ (2X).

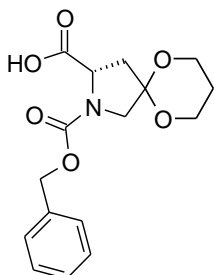
Комбіновані органічні шари сушили над MgSO₄, фільтрували та випаровували Сирий продукт очищували хроматографією на колонці (силікагель 0 – 50% етилацетат у гексані), що дало 2-метил 1-(фенілметил) (2S)-4-оксо-1,2-піролідині гідрогенкарбонат (інтермедіат 23) (6,3 г, вихід: 63%). ¹H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ млн⁻¹ 7,29 - 7,56 (m, 5 H) 5,08 - 5,37 (m, 2 H) 4,80 - 5,02 (m, 1 H) 3,89 - 4,08 (m, 2 H) 3,53 - 3,88 (m, 3 H) 2,95 (dd, J=18,82, 10,79 Гц, 1 H) 2,63 (dd, 1 H).

Інтермедіат 24: 3-метил 2-(фенілметил) (3S)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-2,3-гідрогенкарбонат



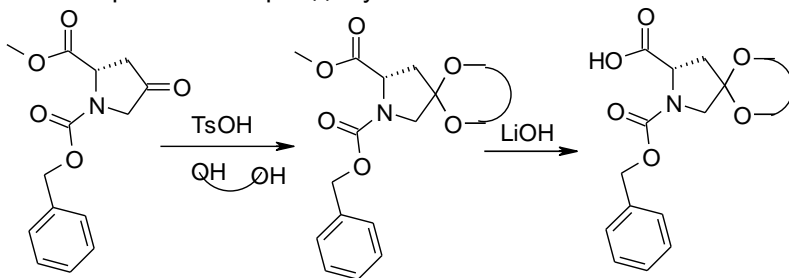
3-Метил 2-(фенілметил) (3S)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-2,3-гідрогенкарбонат (інтермедіат 24) (1,02 г, вихід 84%) отримували з 2-метил 1-(фенілметил) (2S)-4-оксо-1,2-піролідингідрогенкарбонату (1,0 г, 3,61 ммол) та 1,3-пропандіолу (0,55 г, 7,21 ммол) за процедурою, подібною описаній в отриманні інтермедіату 14 ^1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ млн $^{-1}$ 7,05 - 7,61 (m, 5 H) 4,91 - 5,25 (m, 2 H) 4,29 - 4,68 (m, 1 H) 3,75 - 4,07 (m, 5 H) 3,38 - 3,75 (m, 4 H) 2,25 - 2,67 (m, 2 H) 1,51 - 2,00 (m, 1H). ЕР PX-МС m/z =336,6 (M+H) $^{+}$.

Інтермедіат 20: (3S)-2-[[фенілметил)окси]карбоніл]-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонова кислота



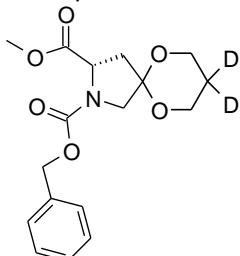
(3S)-2-[[фенілметил)окси]карбоніл]-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонову кислоту (інтермедіат 20) (878 мг, вихід :90%) отримували з 3-метил 2-(фенілметил) (3S)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-2,3-гідрогенкарбонату (інтермедіат 24) (1,02 г, 3,04 ммол) та LiOH (80 мг, 3,35 ммол), за процедурою, подібною описаній в отриманні інтермедіату 2. ЕР PX-МС m/z =322,2 (M+H) $^{+}$.

Інтермедіати 26, 27, 28, 29, 31, 33 та 34 отримували, застосовуючи процедури подібні описаній в отриманні інтермедіату 20:



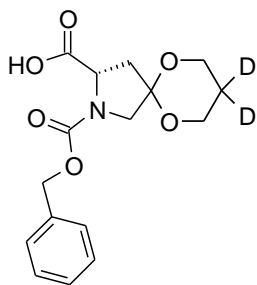
23

Інтермедіат 25: 3-метил 2-(фенілметил) (3S)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-2,3-гідрогенкарбонат-d $_2$



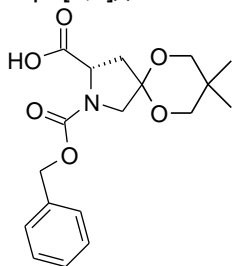
^1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ млн $^{-1}$ 7,27 - 7,46 (m, 5 H) 4,97 - 5,27 (m, 2 H) 4,29 - 4,64 (m, 1 H) 3,72 - 4,02 (m, 6 H) 3,49 - 3,72 (m, 3 H) 2,19 - 2,67 (m, 2 H). ЕР PX-МС m/z =338,2 (M+H) $^{+}$.

Інтермедіат 26: (3S)-2-[[фенілметил)окси]карбоніл]-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонова кислота-d $_2$



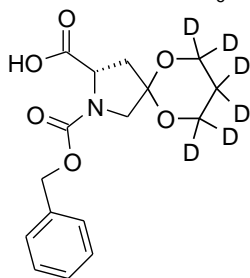
EP PX-MC $m/z = 324,2 (M+H)^+$.

Інтермедіат 27: (3S)-8,8-диметил-2-([(фенілметил)окси]карбоніл)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонова кислота



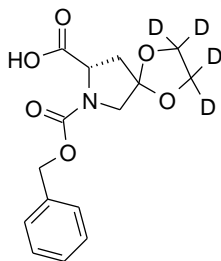
5

Інтермедіат 28: (3S)-2-([(фенілметил)окси]карбоніл)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонова кислота- d_6

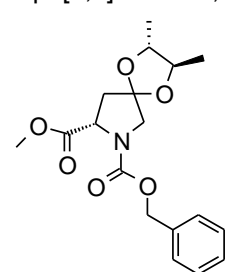


10

Інтермедіат 29: (8S)-7-([(фенілметил)окси]карбоніл)-1,4-діокса-7-азаспіро[4,4]нонан-8-карбонова кислота- d_4



Інтермедіат 30: 8-метил 7-(фенілметил) (2R,3R,8S)-2,3-диметил-1,4-діокса-7-азаспіро[4,4]нонан-7,8-гідрогенкарбонат



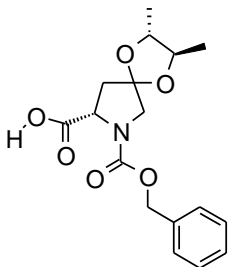
15

1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$) δ \square млн $^{-1}$ 1,12 - 1,24 (m, 6 H), 2,00 - 2,18 (m, 1 H), 2,35 - 2,46 (m, 1 H), 3,32 (s, 1 H), 3,35 - 3,44 (m, 1 H), 3,56 (s, 2 H), 3,64 (s, 3 H), 4,28 - 4,37 (m, 1 H), 4,38 - 4,45 (m, 0 H), 5,09 (s, 2 H), 7,24 - 7,41 (m, 5 H)

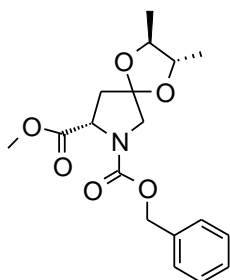
PX-MC (EPI): $m/z = 350,1 (M+H)^+$;

Інтермедіат 31: (2R,3R,8S)-2,3-диметил-7-([(фенілметил)окси]карбоніл)-1,4-діокса-7-

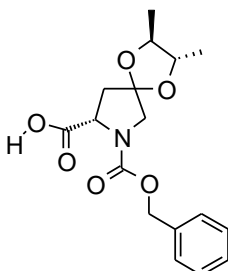
азаспіро[4,4]нонан-8-карбонова кислота



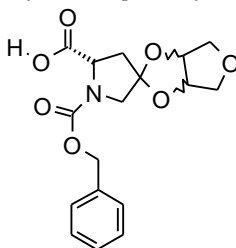
PX-MC (EPI): $m/z = 336,2(M+H)^+$;
 Інтермедіат 32: 8-метил 7-(фенілметил) (2S,3S,8S)-2,3-диметил-1,4-діокса-7-
 5 азаспіро[4,4]нонан-7,8-гідрогенкарбонат



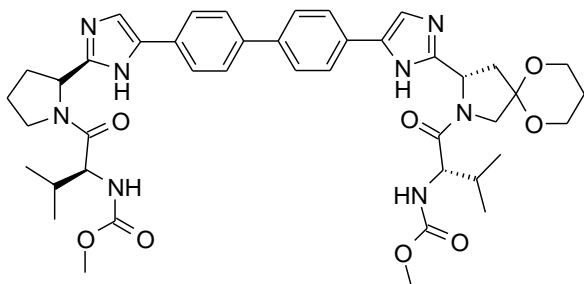
1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ \square млн $^{-1}$ 1,18 - 1,31 (m, 6 H), 2,23 (dd, J=13,1, 5,9 Гц, 1 H), 2,39 (dt, J=13,1, 8,0 Гц, 1 H), 3,49 - 3,66 (m, 6 H), 3,76 (s, 1 H), 4,39 - 4,56 (m, 1 H), 4,98 - 5,26 (m, 2 H), 7,36 (s, 5H)
 10 PX-MC (EPI): $m/z = 350,1(M+H)^+$;
 Інтермедіат 33: (2S,3S,8S)-2,3-диметил-7-[(фенілметил)окси]карбоніл}-1,4-діокса-7-
 азаспіро[4,4]нонан-8-карбонова кислота



PX-MC (EPI): $m/z = 336,2(M+H)^+$;
 15 Інтермедіат 34: (5'S)-1'-{[(фенілметил)окси]карбоніл}тетрагідроспіро[фуоро[3,4-d][1,3]діоксол-
 2,3'-піролідін]-5'-карбонова кислота

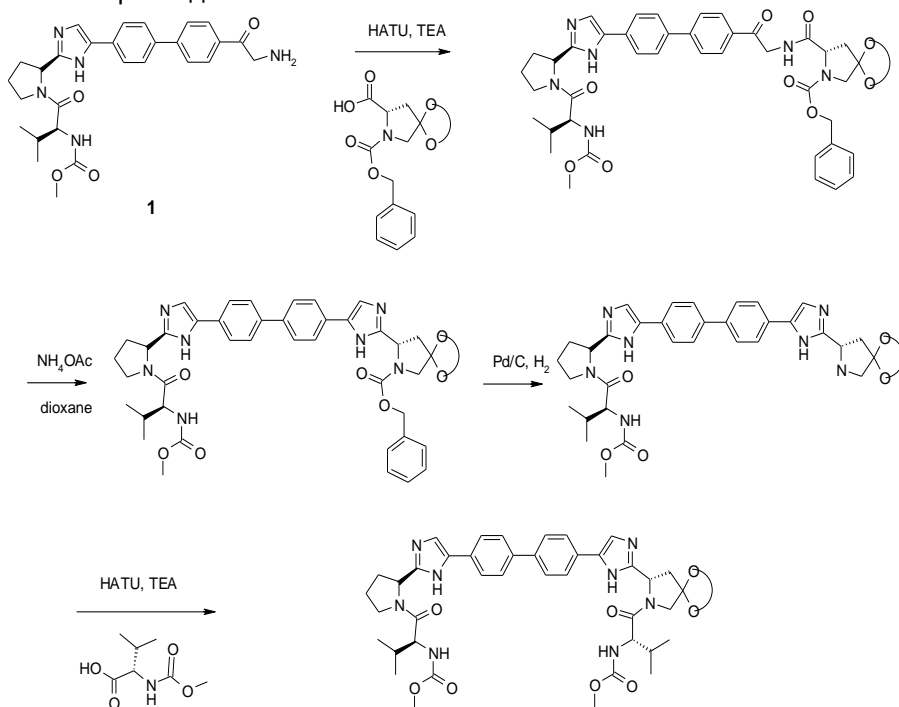


PX-MC (EPI): $m/z = 350,2(M+H)^+$;
 20 Приклад 6: метил[(1S)-2-метил-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(3S)-2-((2S)-3-метил-2-
 {[(метилокси)карбоніл]аміно}бутаноіл)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]-1H-імідазол-4-іл}-4-
 біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл)пропіл]карбамат

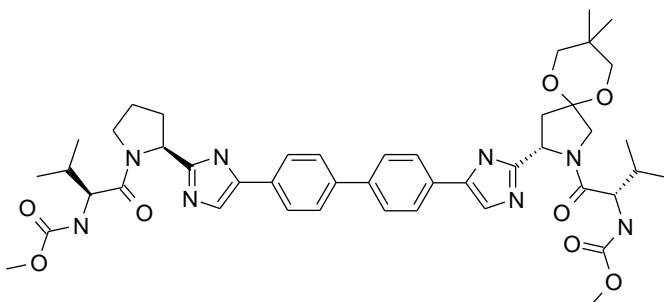


Метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[(3S)-2-((2S)-3-метил-2-((метилокси)карбоніл)аміно)бутаноіл)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл)-1-піролідиніл]карбоніл)пропіл]карбамат (47 мг, вихід: 53%) отримували з метил[(1S)-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[(3S)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніліл]-1H-імідазол-2-іл)-1-піролідиніл]карбоніл)-2-метилпропіл]карбамату (інтермедіат 19) (68 мг, 0,104 ммол), N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіну (18,2 мг, 0,104) та HATU (40 мг, 0,104 ммол), за процедурою, подібною описаній в прикладі 5. ¹H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ мн⁻¹ 10,20 - 11,06 (m, 2 H) 7,35 - 8,02 (m, 8 H) 7,22 (d, J=7,78 Гц, 2 H) 4,97 - 5,89 (m, 4 H) 3,22 - 4,58 (m, 15 H) 2,83 - 3,20 (m, 1 H) 2,58 - 2,83 (m, 1 H) 2,29 - 2,58 (m, 1 H) 1,57 - 2,31 (m, 8 H) 0,64 - 1,22 (m, 12 H). ВРМС: (M+H)⁺ розраховано: 811,4143; знайдено: 811,4142.

Продукти в прикладах 7 - 11 отримували, застосовуючи синтетичні послідовності, подібні описаним в прикладі 5



Приклад 7: метил[(1S)-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[(3S)-8,8-диметил-2-((2S)-3-метил-2-((метилокси)карбоніл)аміно)бутаноіл)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл)-1-піролідиніл]карбоніл)-2-метилпропіл]карбамат

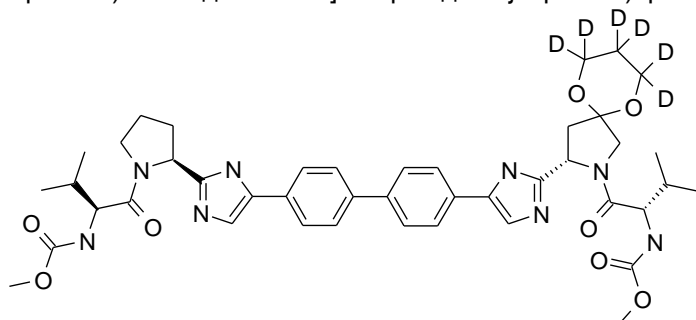


¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ (млн⁻¹) 11,84 (br. s., 1 H), 11,80 (br. s., 1 H), 7,90-7,60 (br. m, 9H), 7,52 (s, 1H), 7,36-7,25 (br. m, 2H), 5,09 (br. m, 1H), 4,98 (m, 1H), 4,49 (br. m, 1H), 4,14-4,02 (br. m,

2H), 3,81 (br, 2H), 3,73-3,40 (br. m, 11H), 2,65 (m, 1H), 2,43-2,09 (br. m, 3H), 2,07-1,81 (br. m, 4H), 1,05-0,75 (br. m, 18H)

ЕР PX-МС $m/z = 839$ ($M + H$)⁺ Чистота (PX/МС) 96%

- Приклад 8: метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[(3S)-2-((2S)-3-метил-2-
5 {[(метилокси)карбоніл]аміно}бутаноіл)-6,10-діокса-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]-1H-імідазол-4-іл}-4-
біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл)пропіл]карбамат-d₆



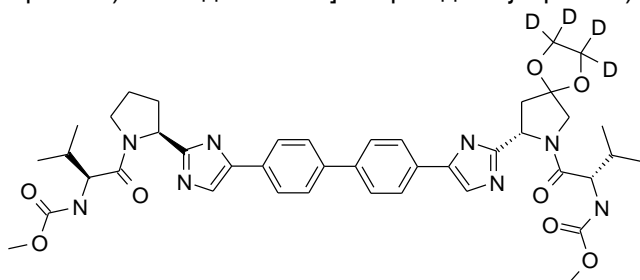
¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ млн⁻¹ 7,62 (m, 8H), 7,29 (m, 2H), 5,17 (m, 2H), 4,20 (m, 2H), 4,00 (m, 2H), 3,88 (m, 2H), 3,65 (s, 6H), 2,65 - 2,03 (m, 8H), 0,90 (m, 12H).

10 PX-МС для C₄₃H₄₈N₈O₈D₆ ($M + H$)⁺ розраховано: 817, знайдено: 817.

ВРМС для C₄₃H₄₈N₈O₈D₆ ($M + H$)⁺ розраховано: 817,4519, знайдено: 817,4517

Чистота (PX/МС) 95%

- Приклад 9: метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[(8S)-7-((2S)-3-метил-2-
15 {[(метилокси)карбоніл]аміно}бутаноіл)-1,4-діокса-7-азаспіро[4,4]нон-8-іл]-1H-імідазол-4-іл}-4-
біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл)пропіл]карбамат-d₄



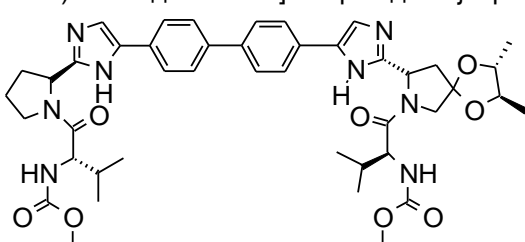
¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ млн⁻¹ 7,60 (m, 8H), 7,28 (m, 2H), 5,17 (m, 2H), 4,23 (m, 1H), 4,15 (m, 1H), 4,06 (m, 1H), 3,97 (m, 1H), 3,88 (m, 2H), 3,64 (s, 6H), 2,50 - 2,00 (m, 8H), 0,90 (m, 12H).

PX-МС для C₄₂H₄₈N₈O₈D₄ ($M + H$)⁺ розраховано: 801, знайдено: 801.

20 ВРМС для C₄₂H₄₈N₈O₈D₄ ($M + H$)⁺ розраховано: 801,4237, знайдено: 801,4238

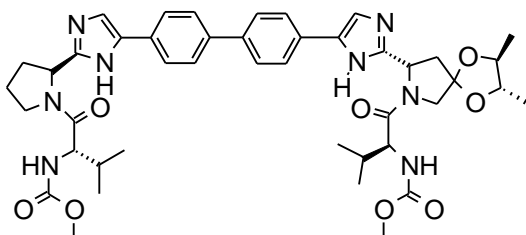
Чистота (PX/МС) 91%

- Приклад 10: метил[(1S)-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[(2R,3R,8S)-2,3-диметил-7-((2S)-3-метил-2-
25 {[(метилокси)карбоніл]аміно}бутаноіл)-1,4-діокса-7-азаспіро[4,4]нон-8-іл]-1H-імідазол-5-іл}-4-
біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл)-2-метилпропіл]карбамат



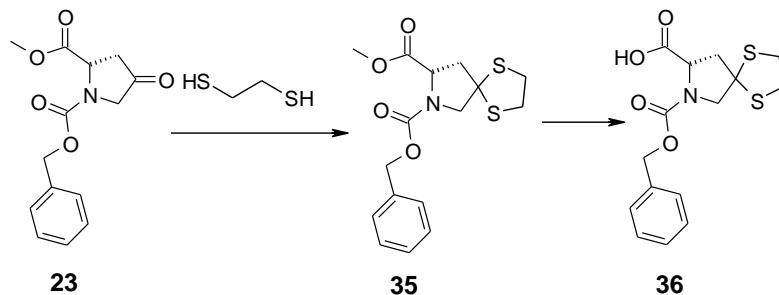
¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ млн⁻¹ 0,85 (d, J=6,4 Гц, 12 H), 1,24 (dd, J=11,9, 5,8 Гц, 6 H), 1,87 - 2,06 (m, 4 H), 2,08 - 2,21 (m, 2 H), 2,34 - 2,43 (m, 1 H), 3,54 (s, 6 H), 3,59 - 3,68 (m, 2 H), 3,69 - 3,75 (m, 2 H), 3,81 (br. s., 2 H), 3,97 - 4,14 (m, 3 H), 5,00 - 5,17 (m, 2 H), 7,25 - 7,33 (m, 2 H), 7,49 - 7,54 (m, 2 H), 7,62 - 7,71 (m, 4 H), 7,78 (d, J=7,7 Гц, 4 H), 11,79 (br. s., 2 H); PX-МС (EPI): $m/z = 825,5$ ($M+H$)⁺; ВРМС: ($M+H$)⁺ розраховано, 825,4299; знайдено, 825,4302. Чистота: 92%

- Приклад 11: метил[(1S)-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[(2S,3S,8S)-2,3-диметил-7-((2S)-3-метил-2-
30 {[(метилокси)карбоніл]аміно}бутаноіл)-1,4-діокса-7-азаспіро[4,4]нон-8-іл]-1H-імідазол-5-іл}-4-
біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл)-2-метилпропіл]карбамат

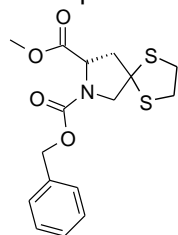


¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ м^{лн}⁻¹ 0,70 - 0,96 (m, 7 H), 1,12 - 1,35 (m, 4 H), 1,85 - 2,04 (m, 3 H), 2,04 - 2,25 (m, 2 H), 2,31 - 2,47 (m, 1 H), 3,33 (s, 7 H), 3,45 - 3,61 (m, 8 H), 3,63 - 3,89 (m, 7 H), 3,94 - 4,15 (m, 4H), 4,91 - 5,17 (m, 2 H), 7,20 - 7,40 (m, 2 H), 7,49 - 7,59 (m, 1 H), 7,60 - 7,70 (m, 2 H), 7,70 - 7,81 (m, 2 H), 7,81 - 7,93 (m, 2 H), 7,96 - 8,08 (m, 0 H), 11,59 - 12,00 (m, 2 H); PX-МС (EPI): m/z 825,5(M+H)⁺; ВРМС: (M+H)⁺ розраховано, 825,4299; знайдено, 825,4302.

Інтермедіат 36: (8S)-7-[[фенілметил]окси]карбоніл]-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нонан-8-карбонова кислота

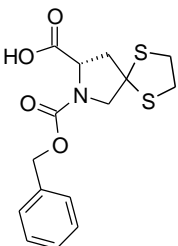


Інтермедіат 35: 8-метил 7-(фенілметил) (8S)-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нонан-7,8-гідрогенкарбонат



До перемішаного розчину 2-метил 1-(фенілметил) (2S)-4-оксо-1,2-піролідінгідрогенкарбонату (інтермедіат 23) (680 мг, 2,452 ммол) у безводному ДХМ (50 мл) додавали 1,2-етантіодіол (462 мг, 4,9 ммол), а потім – BF₃ етерат (139 мг, 0,4 ммол). Отриману суміш перемішували протягом ночі при к.т. перед гасінням NaHCO₃ (сусп.). Шари відокремлювали та органічний шар сушили, фільтрували та випаровували. Залишок очищували хроматографією на колонці (сілікагель, 0 - 50 % етилацетат у гексані), що дало 8-метил 7-(фенілметил) (8S)-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нонан-7,8-гідрогенкарбонат (інтермедіат 35) як олію. ¹H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ м^{лн}⁻¹ 7,28 - 7,48 (m, 5 H) 4,95 - 5,35 (m, 2 H) 4,34 - 4,63 (m, 1 H) 3,90 - 4,11 (m, 1 H) 3,82 - 3,90 (m, 1 H) 3,78 (s, 2 H) 3,50 - 3,69 (m, 1 H) 3,15 - 3,45 (m, 4 H) 2,74 (ddd, J=13,30, 7,78, 1,25 Гц, 1 H) 2,40 - 2,64 (m, 1 H). EP PX-МС m/z =354,2 (M+H).

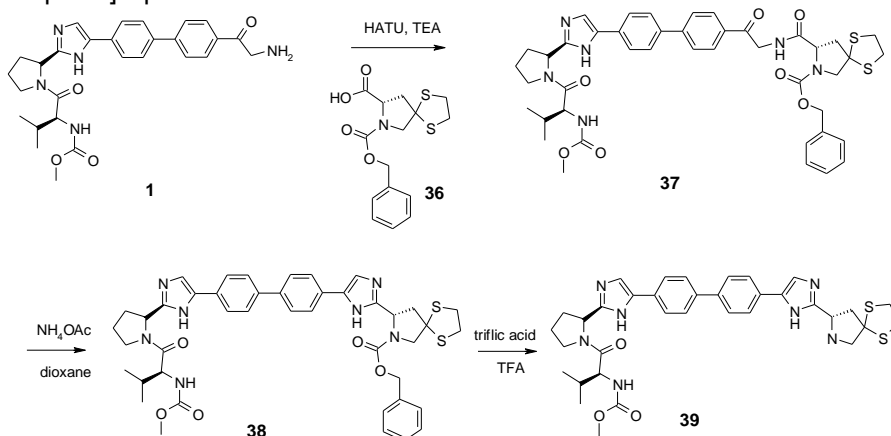
Інтермедіат 36: (8S)-7-[[фенілметил]окси]карбоніл]-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нонан-8-карбонова кислота



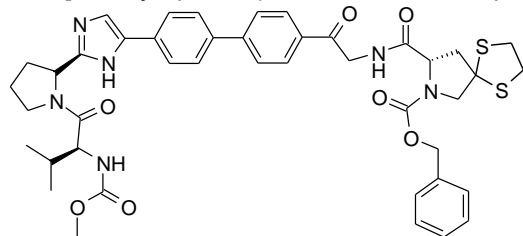
(8S)-7-[[фенілметил]окси]карбоніл]-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нонан-8-карбонова (інтермедіат 36) кислота (36) (640 мг, вихід: 84%) отримували з 8-метил 7-(фенілметил) (8S)-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нонан-7,8-гідрогенкарбонату (798 мг, 2,25 ммол) та LiOH (60 мг, 2,5 ммол), за процедурою, описаною в отриманні інтермедіату 2. EP PX-МС m/z =340,1 (M+H).

Інтермедіат 39: Отримання метил[(1S)-1-((2S)-2-[4-(4'-{(8S)-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нон-8-

іл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл}карбоніл)-2-метилпропіл]карбамат

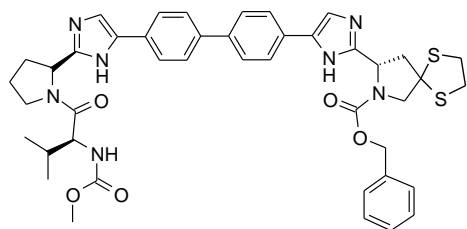


Інтермедіат 37: фенілметил(8S)-8-([2-(4'-{2-[(2S)-1-((2S)-3-метил-2-[[метилокси]карбоніл]аміно}бутаноіл)-2-піролідініл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-2-оксоетил]аміно}карбоніл)-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нонан-7-карбонат



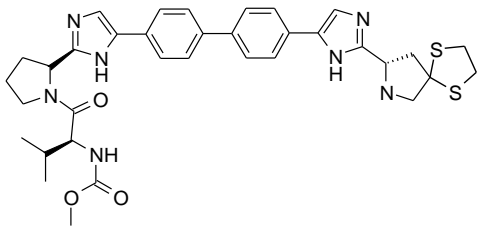
Фенілметил (8S)-8-([2-(4'-{2-[(2S)-1-((2S)-3-метил-2-[[метилокси]карбоніл]аміно}бутаноіл)-2-піролідініл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-2-оксоетил]аміно}карбоніл)-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нонан-7-карбонат (інтермедіат 37) (584 мг, вихід 68%) отримували з метил {[1S)-1-[[2-(4'-{2-[(2S)-1-((2S)-3-метил-2-[[метилокси]карбоніл]аміно}бутаноіл)-2-піролідініл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-2-оксоетил]аміно}карбоніл)-2-метилпропіл]карбамат дигідрогенхлорид (інтермедіат 1) (603 мг, 1,046 ммол), (8S)-7-[[фенілметил]окси]карбоніл)-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нонан-8-карбонова кислота (інтермедіат 36) (355 мг, 1,046 ммол) та HATU (498 мг, 1,046 ммол), за процедурою, подібною описаній в отриманні інтермедіату 21. ^1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ млн $^{-1}$ 7,88 - 8,03 (m, 2 H) 7,45 - 7,85 (m, 6 H) 7,05 - 7,45 (m, 6 H) 5,61 (br. s., 1 H) 4,98 - 5,41 (m, 2 H) 4,42 - 4,92 (m, 2 H) 4,35 (t, J=7,78 Гц, 1 H) 3,93 - 4,06 (m, 1 H) 3,86 (d, J=8,78 Гц, 3 H) 3,62 - 3,80 (m, 4 H) 3,35 (d, J=5,02 Гц, 4 H) 3,21 (d, J=7,28 Гц, 1 H) 2,61 - 2,96 (m, 2 H) 2,24 (br. s., 2 H) 1,93 - 2,16 (m, 2 H) 0,98 - 1,17 (m, 3 H) 0,91 (t, J=7,15 Гц, 6 H). EP PX-MC m/z =825,2 (M+H).

Інтермедіат 38: фенілметил (8S)-8-(4-{4'-[2-((2S)-1-{N-[[метилокси]карбоніл]-L-валіл)-2-піролідініл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл)-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нонан-7-карбонат



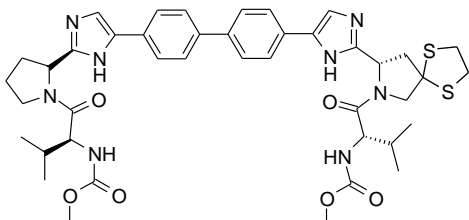
Фенілметил (8S)-8-(4-{4'-[2-((2S)-1-{N-[[метилокси]карбоніл]-L-валіл)-2-піролідініл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл)-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нонан-7-карбонат (інтермедіат 38) (497 мг, 87%) отримували з фенілметил (8S)-8-([2-(4'-{2-[(2S)-1-((2S)-3-метил-2-[[метилокси]карбоніл]аміно}бутаноіл)-2-піролідініл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-2-оксоетил]аміно}карбоніл)-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нонан-7-карбонату (інтермедіат 37) (584 мг, 0,71 ммол) та амоній ацетату (546 мг, 7,1 ммол), за процедурою, подібною описаній в отриманні інтермедіату (22). EP PX-MC m/z =806,4 (M+H).

Інтермедіат 39: метил[(1S)-1-([2-(4'-{2-[(8S)-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нон-8-іл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідініл}карбоніл)-2-метилпропіл]карбамат



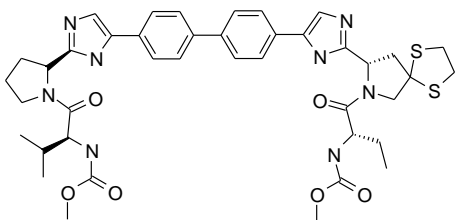
При к.т., до перемішуваного розчину фенолметил (8S)-8-(4-{4'-[2-((2S)-1-{N-
 [(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-2-піролідиніл)-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл)-1,4-
 дитіа-7-азаспіро[4,4]нон-7-карбонату (інтермедіат 38) (497 мг, 0,617 ммол) у ТФОК (6 мл)
 5 додавали трифлуороцтову кислоту (278 мг, 1,85 ммол). Отриману суміш перемішували при к.т.
 протягом 3 год. Випаровували розчинники, нейтралізували з NaHCO_3 (сусп.) та водну фазу
 екстрагували ДХМ (15% ІПС) (3X). Комбіновані органічні фази сушили, фільтрували та
 випаровували, що дало метил[(1S)-1-((2S)-2-[4-(4'-[2-((8S)-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нон-8-іл]-1H-
 імідазол-4-іл)-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл)-2-метилпропіл]карбамат
 10 (інтермедіат 39) (400 мг, вихід: 97%). ЕР PX-MC m/z = 672,2 (M+H).

Приклад 12: метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-[2-((8S)-7-((2S)-3-метил-2-
 {(метилокси)карбоніл]аміно}бутаноіл)-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нон-8-іл]-1H-імідазол-4-іл)-4-
 біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл)пропіл]карбамат



Метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-[2-((8S)-7-((2S)-3-метил-2-{(метилокси)карбоніл]
 аміно}бутаноіл)-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нон-8-іл]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-
 іл]-1-піролідиніл)карбоніл)пропіл]карбамат (88 мг, вихід: 27%) отримували з метил[(1S)-1-((2S)-
 2-[4-(4'-[2-((8S)-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нон-8-іл]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-
 1-піролідиніл)карбоніл)-2-метилпропіл] карбамату (інтермедіат 39) (250 мг, 0,372 ммол), N-
 20 [(метилокси)карбоніл]-L-валіну (65 мг, 0,372 ммол) та HATU (141 мг, 0,372 ммол), за
 процедурою, подібною описаній в прикладі 5. ^1H ЯМР (400 МГц, CH_2Cl_2 - d_2) δ мн $^{-1}$ 10,07 -
 11,08 (m, 2 H) 7,82 (br. s., 3 H) 7,58 (d, J =6,02 Гц, 5 H) 7,10 - 7,30 (m, 2 H) 5,54 (d, J =9,29 Гц, 2 H)
 5,17 - 5,42 (m, 3 H) 4,01 - 4,48 (m, 2 H) 3,23 - 4,03 (m, 10 H) 2,70 - 3,19 (m, 2 H) 2,30 - 2,49 (m, 1 H)
 1,91 - 2,29 (m, 4 H) 1,19 - 1,56 (m, 4 H) 1,07 (dd, J =10,54, 7,03 Гц, 2 H) 0,58 - 0,97 (m, 10 H).
 25 ВРМС: (M+H) $^+$ розраховано: 829,3530; знайдено: 829,3534.

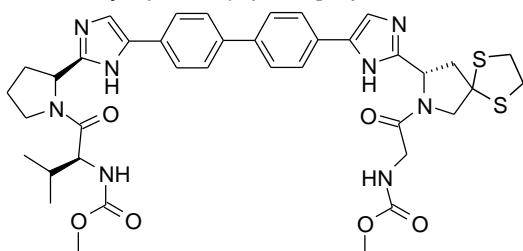
Приклад 13: метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-[2-((8S)-7-((2S)-2-{(метилокси)
 карбоніл]аміно}бутаноіл)-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нон-8-іл]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніліл)-1H-
 імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл)пропіл]карбамат



Метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-[2-((8S)-7-((2S)-2-{(метилокси)карбоніл] аміно} бутаноіл)-
 1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нон-8-іл]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-
 піролідиніл)карбоніл)пропіл]карбамат (35 мг, вихід: 27%) отримували з метил[(1S)-1-((2S)-2-[4-
 (4'-[2-((8S)-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нон-8-іл]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-
 піролідиніл)карбоніл)-2-метилпропіл]карбамату (інтермедіат 39) (100 мг, 0,149 ммол), (2S)-2-
 35 {(метилокси)карбоніл]аміно}бутаноїї кислоти (24 мг, 0,15 ммол) та HATU (56,5 мг, 0,149 ммол),
 за процедурою, подібною описаній в прикладі 5. ^1H ЯМР (400 МГц, CH_2Cl_2 - d_2) δ мн $^{-1}$ 9,99
 - 11,64 (m, 2 H) 7,53 (br. s., 8 H) 7,12 - 7,34 (m, 2 H) 5,26 (br. s., 2 H) 3,18 - 4,64 (m, 17 H) 2,79 (br.
 s., 2 H) 1,43 - 2,62 (m, 8 H) 0,70 - 1,19 (m, 9 H). ВРМС: (M+H) $^+$ розраховано: 815,3373; знайдено:
 815,3373.

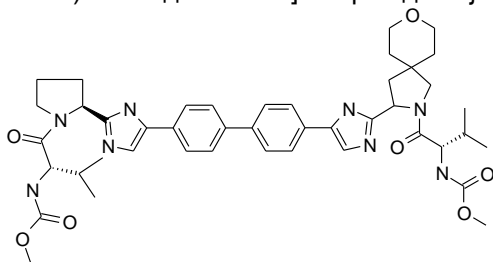
Приклад 14: метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-[2-((8S)-7-((2S)-2-{(метилокси)карбоніл]

аміно}ацетил)-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нон-8-іл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл}карбоніл)пропіл}карбамат



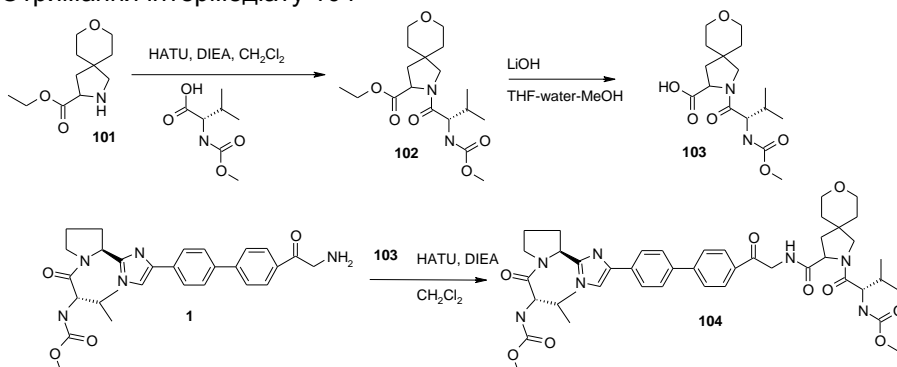
Метил[(1S)-2-метил-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(8S)-7-({(метилокси)карбоніл}аміно)ацетил)-1,4-дитіа-7-азаспіро[4,4]нон-8-іл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл}карбоніл)-2-метилпропіл}карбамату (інтермедіат 39) (50 мг, 0,074 ммол), N-[(метилокси)карбоніл]гліцину (10 мг, 0,074 ммол) та HATU (28,3 мг, 0,074 ммол), за процедурою, подібною описаній в прикладі 5. ¹H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ млн⁻¹ 9,86 - 11,31 (m, 2 H) 7,50 (br. s., 8 H) 6,91 - 7,27 (m, 2 H) 5,41 - 6,31 (m, 2 H) 5,24 (br. s., 2 H) 3,12 - 4,45 (m, 18 H) 2,77 (br. s., 2 H) 1,77 - 2,50 (m, 4 H) 0,58 - 1,15 (m, 6 H). ВРМС: (M+H)⁺ розраховано: 787,3055; знайдено: 787,3056.

Приклад 15: метил[(1S)-2-метил-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(2S)-3-метил-2-{{(метилокси)карбоніл}аміно}бутаноіл)-8-окса-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл}карбоніл)пропіл}карбамат

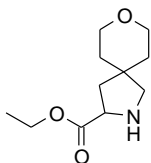


Розчин метил((1S)-2-метил-1-[[{(2S)-2-(4-{4'-[[{2-((2S)-3-метил-2-{{(метилокси)карбоніл}аміно}бутаноіл)-8-окса-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]}карбоніл}аміно)ацетил)-4-біфеніліл]-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл}карбоніл)пропіл}карбамату (інтермедіат 104) (131 мг, 0,16 ммол) та амоній ацетату (122 мг, 1,6 ммол) у діоксані (2 мл) дегазували та нагрівали до 110 °C у герметизованій трубці протягом 18 год. Реакцію охолоджували до кімнатної температури та розбавляли етилацетатом і фільтрували та концентрували у вакуумі. Залишок очищували С₁₈ РФ-хроматографією, елюючи 10-90% водою/ацетонітрилом/0,2% NH₄OH, що дало не зовсім білу тверду речовину (44 мг, 34% вихід). ¹H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-d₄) δ млн⁻¹ 7,55 - 7,87 (m, 8 H) 7,32 (br. s., 4 H) 5,02 - 5,23 (m, 3 H) 4,13 - 4,34 (m, 4 H) 3,93 - 4,04 (m, 1 H) 3,88 (br. s., 2 H) 3,49 - 3,84 (m, 8 H) 1,86 - 2,54 (m, 10 H) 1,45 - 1,84 (m, 4 H) 0,69 - 1,12 (m, 12 H). ВРМС для C₄₄H₅₇N₈O₇ (M + H)⁺ розраховано: 809,4350, знайдено: 809,4346. Чистота (PX-МС): 96%.

Отримання інтермедіату 104

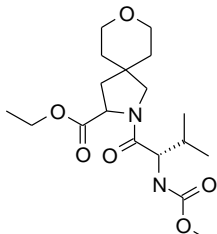


Інтермедіат 101: етил 8-окса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонат,



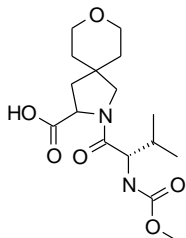
Інтермедіат 101 отримували з кількісним виходом як рацемат із тетрагідро-2Н-піран-4-карбальдегіду (1,0 г, 8,8 ммол) за процедурою, описаною в WO 98/08850 стор. 50.

Інтермедіат 102: етил 2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-8-окса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонат



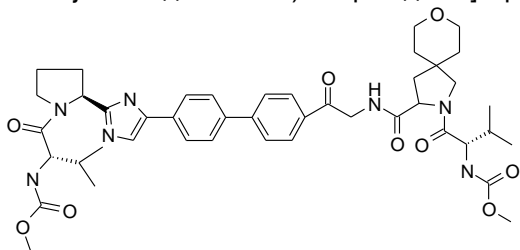
До розчину етил 8-окса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонату (101) (200 мг, 0,94 ммол), НАТУ (392 мг, 1,03 ммол) та N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіну (181 мг, 1,03 ммол) у безводн. CH₂Cl₂ (6 мл) додавали основа Ханіга (0,33 мл, 1,88 ммол), та розчин перемішували при к.т. під азотом. Після 2 год. реакцію концентрували у вакуумі, очищували C₁₈ РФ-хроматографією, елюючи 10-90% АСН/водою/0,2% NH₄ОН, що дало продукт як жовту олію (313 мг, 90% вихід).

Інтермедіат 103: 2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-8-окса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонова кислота



До розчину етил 2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-8-окса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонату (102) (310 мг, 0,84 ммол) у суміші 2:1:1 ТГФ/води/метанолу (6 мл) додавали літій гідроксид моногідрат (70 мг, 1,67 ммол) та реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 2 год. Обробляли 1 N HCl (1,6 мл), розподіляли між EtOAc та водою (30 мл кожне), органічний шар екстрагували EtOAc (30 мл), сушили (MgSO₄) та концентрували, що дало білу піну (211 мг, 74% вихід). Цю речовину застосовували в наступних етапах без додаткового очищення. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ мн⁻¹ 12,43 (br. s., 1 H) 7,19 - 7,41 (m, 1 H) 4,05 - 4,28 (m, 1 H) 3,91 - 4,05 (m, 2 H) 3,40 - 3,71 (m, 6 H) 3,20 - 3,28 (m, 1 H) 1,81 - 1,98 (m, 2 H) 1,70 - 1,80 (m, 1 H) 1,46 - 1,69 (m, 2 H) 1,32 - 1,46 (m, 1 H) 0,65 - 1,03 (m, 10 H).

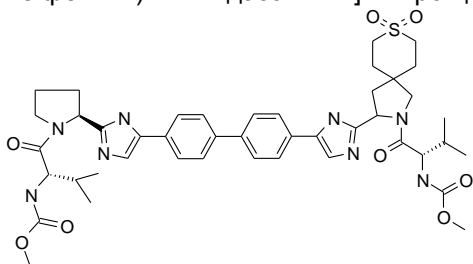
Інтермедіат 104: метил((1S)-2-метил-1-[[[(2S)-2-(4-{4'-[[[2-((2S)-3-метил-2-[[[(метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл]-8-окса-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]карбоніл]аміно]ацетил]-4-біфеніліл]-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл]карбоніл]пропіл]карбамат



До розчину у безводн. CH₂Cl₂ 2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-8-окса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбоної кислоти (103) (100 мг, 0,29 ммол), НАТУ (111 мг, 0,29 ммол) та метил {(1S)-1-[[[(2S)-2-(4-{4'-((аміноацетил)-4-біфеніліл]-1H-імідазол-2-іл)-1-піролідиніл]карбоніл]-2-метилпропіл]карбамату дигідрогенхлориду (1) (168 мг, 0,29 ммол), отриманого як описано в прикладі 1, (2 мл), додавали основу Ханіга (0,2 мл, 1,17 ммол), та розчин перемішували при к.т. під азотом. Після 1 год. реакцію концентрували у вакуумі, очищували C₁₈ РФ-хроматографією, елюючи 10-90% АСН/водою/0,2% NH₄ОН, що дало продукт як жовту тверду речовину (133 мг,

55% вихід).

Приклад 16: метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-(2-[2-((2S)-3-метил-2-[[метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл)-8,8-діоксидо-8-тіа-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл)пропіл]карбамат

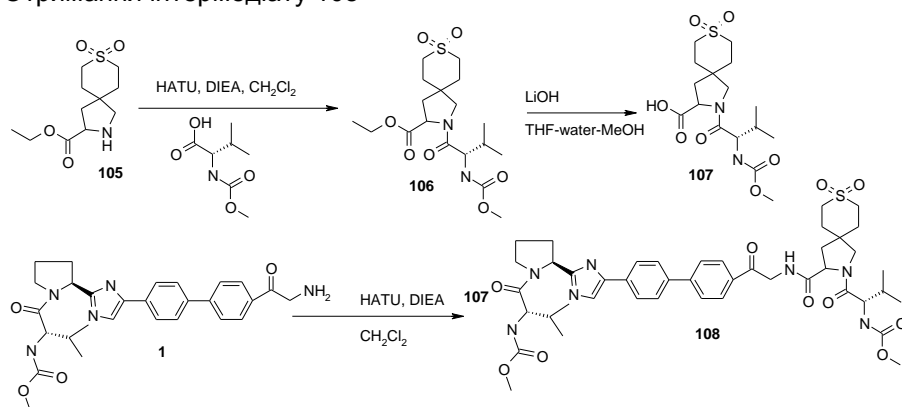


5

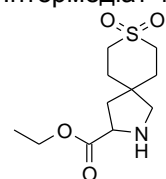
Розчин

метил((1S)-2-метил-1-[(2S)-2-(4-{4'-[[2-((2S)-3-метил-2-[[метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл)-8,8-діоксидо-8-тіа-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]карбоніл]аміно)ацетил)-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл)-1-піролідиніл]карбоніл)пропіл]карбамату (108) (107 мг, 0,12 ммол) та амоній ацетату (94 мг, 1,2 ммол) у діоксані (1,5 мл) дегазували азотом та нагрівали до 110 °C у герметизованій трубці протягом 18 год. Реакцію охолоджували до кімнатної температури та розбавляли етилацетатом і фільтрували та концентрували у вакуумі. Очищували НФХ що дало продукт як жовто-коричневу тверду речовину (39 мг, 37% вихід). ¹H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-d₄) δ мн⁻¹ 7,64 (br. s., 10 H) 7,32 (br. s., 2 H) 5,05 - 5,24 (m, 1 H) 4,04 - 4,29 (m, 1 H) 3,99 (br. s., 1 H) 3,81 (br. s., 1 H) 3,55 - 3,73 (m, 6 H) 3,03 - 3,25 (m, 4 H) 1,80 - 2,47 (m, 14 H) 0,68 - 1,06 (m, 16 H). ВРМС для C₄₄H₅₇N₈O₈S (M + H)⁺ розраховано: 857,4020, знайдено: 857,4020. Чистота (PX-МС): 97%.

Отримання інтермедіату 108



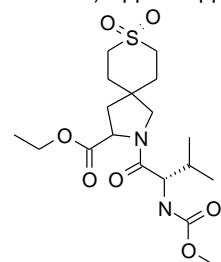
Інтермедіат 105: етил 8-тіа-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонат 8,8-діоксид



20

Цю сполуку отримували з виходом 90% із тетрагідро-2H-тіопіран-4-карбальдегід 1,1-діоксиду (1,05 г, 6,47 ммол) в умовах як у прикладі 15.

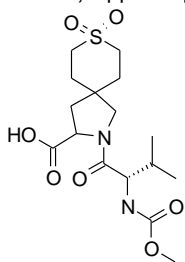
Інтермедіат 106: етил 2-[N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл]-8-тіа-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонат 8,8-діоксид



25

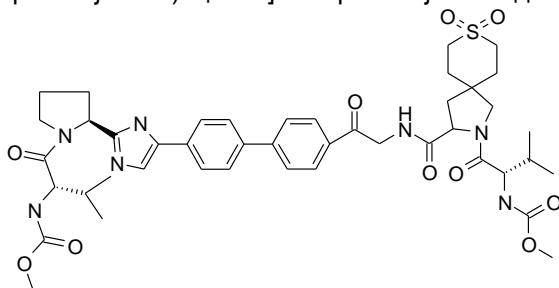
Інтермедіат 106 отримували з виходом 60% із етил 8-тіа-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонат 8,8-діоксиду (105) (200 мг, 0,77 ммол) в умовах як у прикладі 15.

Інтермедіат 107: 2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-8-тіа-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонова кислота 8,8-діоксид



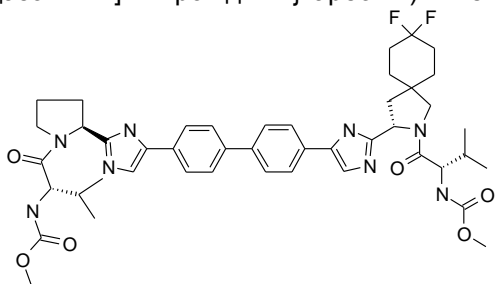
Інтермедіат 107 отримували з кількісним виходом із етил 2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-8-тіа-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонат 8,8-діоксиду (106) (187 мг, 0,45 ммол) в умовах як у прикладі 15. Застосовували в наступних етапах без додаткового очищення. ^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ млн $^{-1}$ 12,48 (br. s., 1 H) 7,13 - 7,44 (m, 1 H) 4,10 - 4,31 (m, 1 H) 3,46 - 3,61 (m, 3 H) 2,93 - 3,24 (m, 3 H) 2,32 (dd, J=3,7, 1,76 Гц, 1 H) 1,93 - 2,13 (m, 3 H) 1,73 - 1,94 (m, 2 H) 1,55 - 1,71 (m, 1 H) 0,66 - 1,04 (m, 10 H).

Інтермедіат 108: метил((1S)-2-метил-1-[[[(2S)-2-(4-{4'-[[[(2S)-3-метил-2-[[[(метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл]-8,8-діоксидо-8-тіа-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]карбоніл]аміно]ацетил]-4-біфеніліл]-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл]карбоніл]пропіл]карбамат



Отримували з виходом 49% із 2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-8-тіа-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонової кислоти 8,8-діоксиду (107) (100 мг, 0,26 ммол) та метил{[(1S)-1-[[[(2S)-2-(4-{4'-[[[(2S)-3-метил-2-[[[(метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл]-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл]-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл]карбоніл]-2-метилпропіл]карбамату дигідрогенхлориду (1) (148 мг, 0,26 ммол), способом аналогічним описаному в прикладі 15.

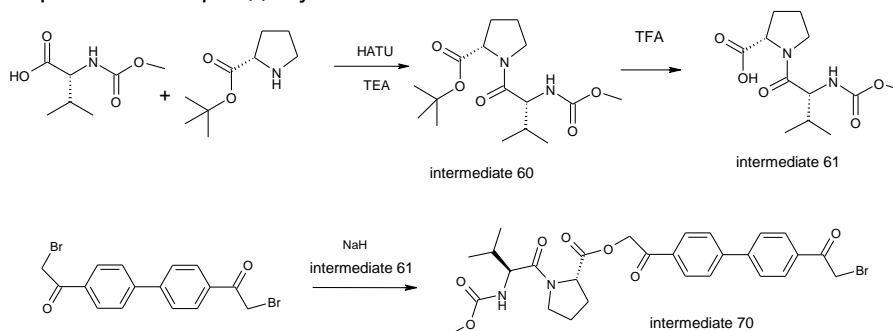
Приклад 17: метил[(1S)-1-[[[(2S)-2-(4-{4'-[[[(2S)-3-метил-2-[[[(метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл]-2-азаспіро[4,5]дец-3-іл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл]-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл]карбоніл]-2-метилпропіл]карбамат



Розчин амоній ацетату (540 мг, 6,9 ммол) та 2-{4'-[[[(2S)-1-((2S)-3-метил-2-[[[(метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл]-2-піролідиніл]карбоніл]окси]ацетил]-4-біфеніліл]-2-оксоетил (3S)-8,8-дифлуоро-2-((2S)-3-метил-2-[[[(метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл]-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонату (інтермедіат 117) (307 мг, 0,35 ммол) у безводному діоксані (3,5 мл) дегазували азотом та нагрівали до 110 °C у герметизованій трубці протягом 3 год. Реакцію охолоджували до кімнатної температури та розподіляли між EtOAc та насич. NaHCO_3 (35 мл кожне), органічний шар промивали розсолем та сушили (MgSO_4) і концентрували у вакуумі.

Залишок очищували C_{18} реверсно-фазовою хроматографією, елюючи 10-100% ацетонітрилом/водою/0,2% NH_4OH що дало заголовну сполуку як жовту тверду речовину (235 мг, 80% вихід). ^1H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ- d_4) δ млн $^{-1}$ 7,69 - 7,82 (m, 3 H) 7,63 (br. s., 5 H) 7,17 - 7,37 (m, 2 H) 5,03 - 5,19 (m, 1 H) 4,20 (br. s., 1 H) 4,06 - 4,16 (m, 1 H) 3,96 (br. s., 1 H) 3,85 (br. s., 1 H) 3,62 (d, J=3,1 Гц, 6 H) 2,24 - 2,38 (m, 3 H) 2,15 (br. s., 3 H) 1,85 - 2,09 (m, 8 H) 1,77 - 1,85 (m, 2 H) 1,53 - 1,76 (m, 3 H) 0,96 (br. s., 4 H) 0,87 (d, J=6,3 Гц, 12 H). ВРМС для $\text{C}_{45}\text{H}_{57}\text{N}_8\text{O}_6\text{F}_2$ (M + H) $^+$ розраховано: 843,4369, знайдено: 843,4371. Чистота (PX-МС): 97%.

Отримання інтермедиату 70



Інтермедіат 60:

- (2S)-2-[[[(2S)-2-[[[1,1-диметилетил]окси]карбоніл]-1-піролідиніл]карбоніл]аміно]-3-метилбутанову кислоту (24,57 г, 143 ммол) та N-[(метилокси)карбоніл]-L-валін (25,1 г, 143 ммол) розчиняли в ДХМ (50 мл). DIPEA (75 мл, 430 ммол) та додавали НОВТ (21,97 г, 143 ммол). Через 5 хвил. додавали EDC (27,5 г, 143 ммол). Реакцію перемішували при к.т. протягом 3 год. Розбавляли водою (50 мл) та додавали 1N HCl (1 мл). Осад відфільтровували та органічні/водні. шари фільтрували через гідрофобну фритту та концентрували до сухого стану, що дало 42,92 г безбарвної олії.

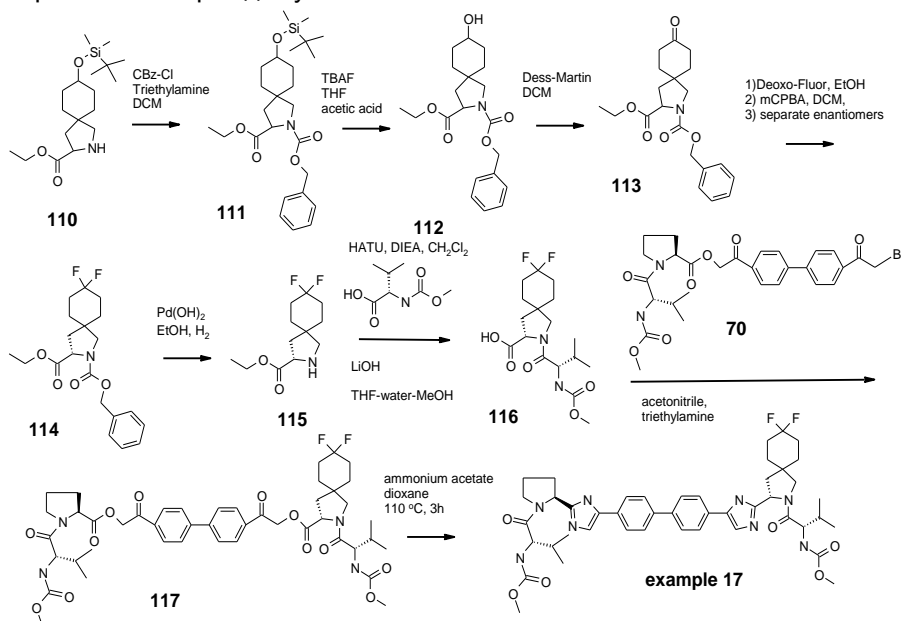
Інтермедіат 61:

1,1-диметилетил N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл-L-пролінат (61 г, 186 ммол) розчиняли в HCl (50 мл, 1646 ммол) (150 мл 0,4 М розч.) та перемішували протягом 5 год. Концентрували до сухого стану, що дало 47,9 г продукту як світло-жовтої липкої піни.

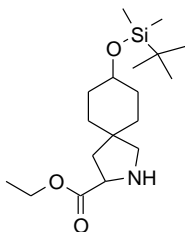
Інтермедіат 70

1,1'-(4,4'-біфенілдііл)біс(2-бромоетанон) (37,8 г, 95 ммол) розчиняли в ДМФ (800 мл) та дегазували протягом 15 хвил. (N₂). Інтермедіат 61 (21,99 г, 81 ммол) розчиняли в ДМФ (100 мл). а потім – обережне додавання NaH (2,94 г, 73,4 ммол, 60% у олії) під азотом протягом 15 хвил. Розчин перемішували під N₂ протягом 15 хвил., потім повільно краплями додавали протягом 15 хвил. до розчину 1,1'-(4,4'-біфенілдііл)біс(2-бромоетанону). а потім – перемішування протягом 1 год. при к.т.. Об'єм розчиннику потім зменшували у вакуумі, приблизно, до 100 мл та охолоджували до 20°C. Повільно додавали 100 мл води, та отриману слабку зелено-жовту тверду речовину фільтрували та промивали водою (200 мл), гексаном (200 мл) та сушили під вакуумом (12 год.). Сиру сполуку очищували на 500 г діоксиду силіцію гексаном/етилацетатом (підвищуючи градієнт із 50% до 100% ЕА), отримуючи 14,5 г (37,3%) інтермедиату 70. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ мн⁻¹ 8,11 (dd, J=12,0, 8,5 Гц, 4 H) 7,96 (d, J=8,4 Гц, 4 H) 7,41 (d, J=8,4 Гц, 1 H) 5,43 - 5,75 (m, 2 H) 4,99 (s, 2 H) 4,53 (dd, J=8,6, 4,7 Гц, 1 H) 4,03 (t, J=8,6 Гц, 1 H) 3,76 - 3,90 (m, 1 H) 3,60 - 3,73 (m, 1 H) 3,53 (s, 3 H) 2,22 - 2,37 (m, 1 H) 2,12 - 2,21 (m, 1 H) 1,85 - 2,06 (m, 3 H) 0,90 (dd, J=10,7, 6,6 Гц, 6 H).

Отримання інтермедиату 117

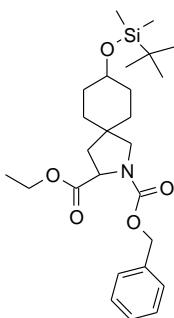


Інтермедіат 110: етил 8-[[[(1,1-диметилетил)(диметил)силіл]оксо]-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонат



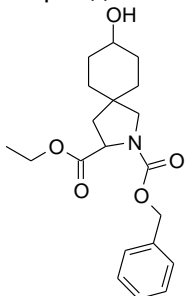
Цю сполуку отримували з виходом 98% як рацемат з 4-[[[(1,1-диметилетил)(диметил)силіл]оксо]циклогексанкарбальдегіду (суміш цис/транс ізомерів) (7,35 г, 30,3 ммол) в умовах як у прикладі 15.

Інтермедіат 111: 3-етил 2-(фенілметил) 8-[[[(1,1-диметилетил)(диметил)силіл]оксо]-2-азаспіро[4,5]декан-2,3-гідрогенкарбонат



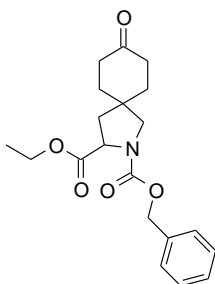
До розчину етил 8-[[[(1,1-диметилетил)(диметил)силіл]оксо]-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонату (110) (10,61 г, 31,3 ммол), розчиненому в сухому ДХМ, додавали триетиламін (10,8 мл, 78 ммол), охолоджували до 0 °С, а потім – додавання Cbz-Cl (6,2 мл, 43,5 ммол), та реакцію перемішували при 0 °С, протягом 5 хвил., к.т. – протягом 1 год. Реакцію розбавляли ДХМ (700 мл), промивали 0,1N HCl (700 мл), сушили (MgSO₄) та концентрували у вакуумі. Залишок очищували хроматографією на силікагелі, елюючи 10-60% гексанами/EtOAc, що дало заголовну сполуку як жовту олію (5,73 г, 39% вихід).

Інтермедіат 112: 3-етил 2-(фенілметил) 8-гідрокси-2-азаспіро[4,5]декан-2,3-гідрогенкарбонат



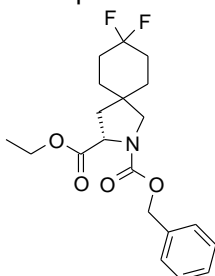
До розчину 3-етил 2-(фенілметил) 8-[[[(1,1-диметилетил)(диметил)силіл]оксо]-2-азаспіро[4,5]декан-2,3-гідрогенкарбонату (111) (5,73 г, 12,05 ммол) у ТГФ (60 мл) додавали льодяну оцтову кислоту (1,38 мл, 24,0 ммол), а потім – ТБАФ (24 мл) як 1 М розчин у ТГФ. Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 72 год. Реакцію розподіляли між EtOAc та водою (250 мл), органічний шар відокремлювали та промивали насичен. NaHCO₃ (100 мл) та сушили (MgSO₄) і концентрували у вакуумі. Знайдено неповне протікання реакції способом ТШХ. Залишок розчиняли в сухому ТГФ (60 мл), охолоджували до 0 °С та обробляли HF-піридином (1,6 мл, 18,0 ммол), нагрівали до кімнатної температури та перемішували протягом 2 год. під азотом. Реакцію заливали в насичен. NaHCO₃ (100 мл) та твердий калій карбонат додавали до призупинення виділення газу. Екстрагували EtOAc (2 x 150 мл), органічні шари комбінували та промивали 0,1 N HCl (100 мл), сушили (MgSO₄) та концентрували у вакуумі, що дало заголовну сполуку з кількісним виходом як жовту олію, яку застосовували в наступних реакціях без додаткового очищення.

Інтермедіат 113: 3-етил 2-(фенілметил) 8-оксо-2-азаспіро[4,5]декан-2,3-гідрогенкарбонат



До розчину 3-етил 2-(фенілметил) 8-гідрокси-2-азаспіро[4,5]декан-2,3-гідрогенкарбонату (112) (4,36 г, 120,05 ммол) у сухому ДХМ (60 мл) додавали Десс-Мартин періодинан (10,22 г, 24,1 ммол), та реакцію перемішували при к.т. під азотом протягом 18 год. Реакцію заливали в 10% водн. натрій тіосульфат (150 мл) та насич. NaHCO_3 (150 мл) та перемішували протягом 10 хвил. Екстрагували ДХМ (2 x 150 мл), сушили (MgSO_4) та концентрували у вакуумі. Залишок очищували хроматографією на силікагелі, елюючи 25-80% гексанами/ EtOAc , що дало заголовну сполуку як бліду жовту олію (2,89 г, 67% вихід).

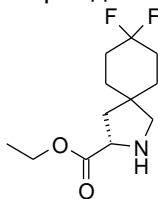
Інтермедіат 114: 3-етил 2-(фенілметил) (3S)-8,8-дифлуоро-2-азаспіро[4,5]декан-2,3-гідрогенкарбонат



До розчину 3-етил 2-(фенілметил) 8-оксо-2-азаспіро[4,5]декан-2,3-гідрогенкарбонату (113) (2,89 г, 7,13 ммол) у безводн. CH_2Cl_2 (50 мл) додавали деоксо-флуор (2,2 мл, 12,1 ммол), а потім – каталітичну кількість етанолу та реакцію перемішували при к.т. під азотом. Після 2,5 год. реакцію заливали в насичен. NaHCO_3 (150 мл), перемішували протягом 10 хвил. Екстрагували ДХМ (2 x 150 мл), та органічний шар промивали 0,1 N HCl (100 мл), сушили (MgSO_4) та концентрували у вакуумі, що дало бажану сполуку як жовту олію (3,01 г), яку забруднено 3-етил 2-(фенілметил) (3S)-8-флуоро-2-азаспіро[4,5]декан-7-ен-2,3-гідрогенкарбонатом у співвідношенні 1:1. Залишок розчиняли в сухому ДХМ (35 мл), та обробляли $m\text{CPBA}$ (77%, 1,66 г, 7,45 ммол) та перемішували під азотом протягом 18 год. Реакцію заливали в насичен. NaHCO_3 (40 мл) та 10% водн. натрій тіосульфат (40 мл) і перемішували протягом 10 хвил. Екстрагували ДХМ (100 мл) та сушили (MgSO_4) і концентрували у вакуумі. Залишок очищували хроматографією на силікагелі, елюючи 5-50% гексанами/ EtOAc . Рацемат потім відокремлювали хіральною ВЕРХ на колонці OD 10 мкм, елюючи 25% ізопропанолом у гексанах, що дало заголовну сполуку як прозору олію (632 мг, 23% вихід). Абсолютну конфігурацію визначали способом коливального кругового дихроїзму (ККД).

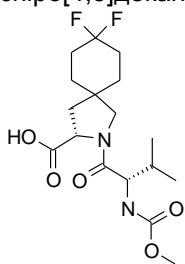
^1H ЯМР (400 МГц, CHLOROFORM-d) δ мн $^{-1}$ 7,28 - 7,41 (m, 5 H) 4,98 - 5,23 (m, 2 H) 4,37 (ddd, $J=19,3, 8,1, 8,0$ Гц, 1 H) 4,22 (q, $J=7,2$ Гц, 1 H) 3,93 - 4,12 (m, 1 H) 3,45 - 3,70 (m, 1 H) 3,36 (dd, $J=10,8, 2,0$ Гц, 1 H) 2,22 (dd, $J=12,8, 8,5$ Гц, 1 H) 1,79 - 2,03 (m, 4 H) 1,59 - 1,78 (m, 4 H) 1,56 (br. s., 1 H) 1,28 (t, $J=7,1$ Гц, 1 H) 1,22 (d, $J=6,1$ Гц, 1 H) 1,13 (t, $J=7,1$ Гц, 1 H). $\text{PX-MS EPI (M + H)}^+ = 381,68$.

Інтермедіат 115: етил (3S)-8,8-дифлуоро-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонат



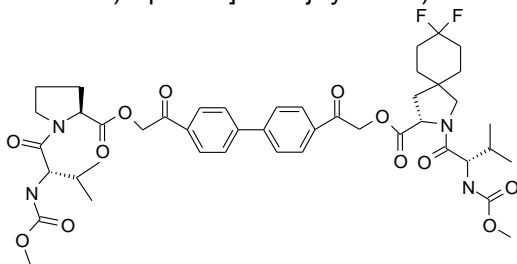
До розчину 3-етил 2-(фенілметил) (3S)-8,8-дифлуоро-2-азаспіро[4,5]декан-2,3-гідрогенкарбонату (114) (630 мг, 1,65 ммол) у абсолютному етанолі (12 мл), додавали 20% Pd(OH)_2 на вугіллі (65 мг), та реакцію гідрогенізували на апараті Фішера-Портера протягом 18 год. при 60 фунт/кв.дюйм. Реакцію фільтрували через целіт та концентрували у вакуумі, що дало заголовну сполуку як прозору олію (380 мг, 93% вихід).

Інтермедіат 116: (3S)-8,8-дифлуоро-2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонова кислота



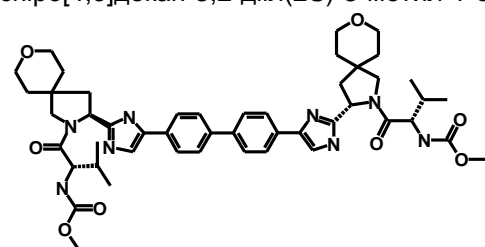
До розчину етил (3S)-8,8-дифлуоро-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонату (115), (380 мг, 1,54 ммол) у безводн. CH_2Cl_2 (10 мл) додавали HATU (614 мг, 1,6 ммол), N-[(метилокси)карбоніл]-L-валін (283 мг, 1,6 ммол), а потім – триетиламін (0,43 мл, 3,1 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі під азотом протягом 1 год. Реакцію концентрували у вакуумі та залишок очищували хроматографією на силікагелі, елюючи 15-80% гексанами/EtOAc. Придатні фракції комбінували та концентрували у вакуумі. Залишок розчиняли в ТГФ/воді/метанолі (5 мл/2,5 мл/2,5 мл) та додавали літій гідроксид моногідрат (119 мг, 2,8 ммол), та розчин перемішували при кімнатній температурі протягом 30 хвил. Реакцію обробляли 1N HCl (3,5 мл) та розподіляли між EtOAc та водою (50 мл кожне). Водний шар екстрагували етилацетатом (50 мл), органічні шари комбінували та сушили (MgSO_4) та концентрували у вакуумі. Залишок розтирали до порошку в діетилетері та концентрували у вакуумі, що дало заголовну сполуку як білу тверду речовину (542 мг, 93% вихід). ^1H ЯМР (400 МГц, DMCO-d_6) δ мн $^{-1}$ 12,47 (br. s., 1 H) 7,41 (d, J=8,0 Гц, 1 H) 4,24 (t, J=8,6 Гц, 1 H) 3,95 - 4,14 (m, 2 H) 3,52 (s, 3 H) 3,25 - 3,33 (m, 1 H) 2,22 (dd, J=12,3, 8,4 Гц, 1 H) 1,79 - 2,11 (m, 5 H) 1,58 - 1,77 (m, 3 H) 1,41 - 1,59 (m, 2 H) 0,93 (dd, J=12,7, 6,6 Гц, 6 H). PX-МС EPI (M + H) $^+$ = 377,23.

Інтермедіат 117: 2-{4'-[({(2S)-1-((2S)-3-метил-2-[(метилокси)карбоніл]аміно)бутаноіл)-2-піролідиніл]карбоніл}окси)ацетил]-4-біфеніліл}-2-оксоетил (3S)-8,8-дифлуоро-2-((2S)-3-метил-2-[(метилокси)карбоніл]аміно)бутаноіл)-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонат



До розчину (3S)-8,8-дифлуоро-2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонової кислоти (116) (168 мг, 0,45 ммол) та 2-[4'-(бромоацетил)-4-біфеніліл]-2-оксоетил N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл-L-пролінату (70) (250 мг, 0,43 ммол) у безводному ацетонітрилі (2 мл) додавали триетиламін (0,09 мл, 0,64 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі під азотом протягом 1 год. Реакцію розподіляли між EtOAc та 0,1 N HCl (30 мл кожне), органічний шар промивали розсолон та сушили (MgSO_4) та концентрували у вакуумі. Залишок очищували хроматографією на силікагелі, елюючи 65-100% гексанами/EtOAc, що дало заголовну сполуку як не зовсім білу тверду речовину (309 мг, 82% вихід).

Приклад 18: диметил (4,4'-біфенілділбіс{1H-імідазол-4,2-дііл(3S)-8-окса-2-азаспіро[4,5]декан-3,2-дііл(2S)-3-метил-1-оксо-1,2-бутандііл})біскарбамат

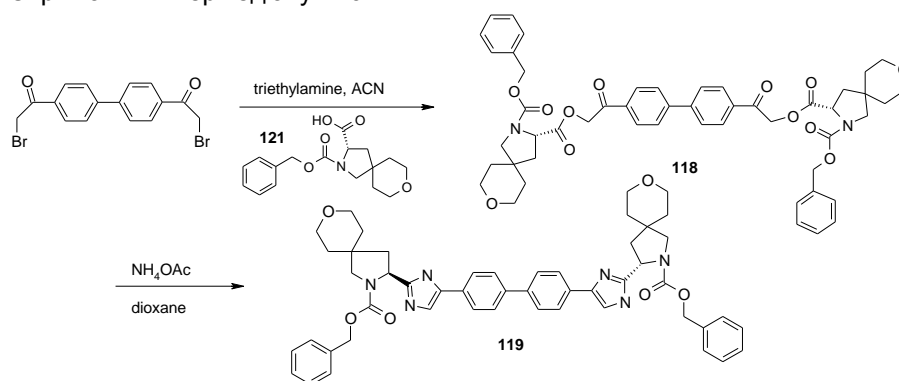


До розчину біс(фенілметил) (3S,3'S)-3,3'-[4,4'-біфенілділбіс{1H-імідазол-4,2-дііл}]біс(8-окса-2-азаспіро[4,5]декан-2-карбонату) (119) (210 мг, 0,25 ммол) у трифлуорооцтовій кислоті (2 мл) охолоджували до 0 °C додавали трифлуорометансульфонову кислоту (0,13 мл), та реакцію нагрівали до кімнатної температури та перемішували протягом 30 хвил. Реакцію концентрували

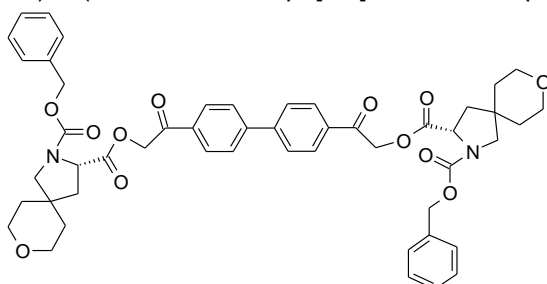
у вакуумі та піддавали роторному випаровуванню. Залишок піддавали роторному випаровуванню з толуолом, та залишок суспендували в дихлорметані (3 мл) та обробляли 4N HCl у діоксані (0,65 мл). Реакцію концентрували у вакуумі та розтирали до порошку в етері та фільтрували для отримання коричневої твердої речовини.

До розчину твердої речовини в безводному ДМФ (2,5 мл) додавали N-[(метилокси)карбоніл]-L-валін (88 мг, 0,5 ммол), НАТУ (183 мг, 0,48 ммол) та триетиламін (0,4 мл, 2,88 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 1 год. Сирю реакційну суміш очищували ВЕРХ, елюючи 10-90% ацетонітрилом/водою/0,2% NH₄ОН, що дало заголовну сполуку як білу жовту тверду речовину (79 мг, 37% вихід). ¹H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-d₄) δ мн⁻¹ 7,60 - 7,79 (m, 10 H) 7,33 (s, 2 H) 5,11 (dd, J=9,9, 7,9 Гц, 2 H) 4,30 (d, J=10,2 Гц, 2 H) 4,17 (d, J=8,2 Гц, 2 H) 3,70 - 3,87 (m, 6 H) 3,56 - 3,71 (m, 10 H) 2,40 (dd, J=12,9, 7,8 Гц, 2 H) 2,13 (dd, J=12,6, 10,3 Гц, 2 H) 1,88 - 2,00 (m, 2 H) 1,70 - 1,84 (m, 4H) 1,46 - 1,69 (m, 6 H) 0,83 - 0,97 (m, 12 H). ВРМС для C₄₈H₆₃N₈O₈ (M + H)⁺ розраховано: 879,4769, знайдено: 879,4769. Чистота (PX-МС): 98%.

Отримання інтермедиату 119

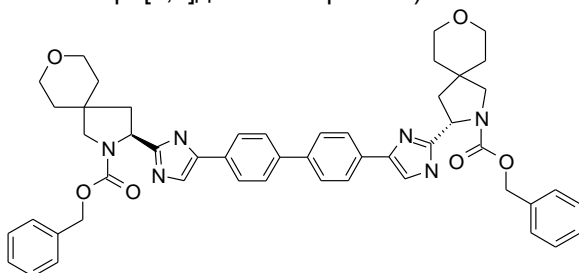


Інтермедіат 118: 3,3'-[4,4'-біфенілдіілбіс(2-оксо-2,1-етандііл)] 2,2'-біс(фенілметил) (3S,3'S)біс(-8-окса-2-азаспіро[4,5]декан-2,3-гідрогенкарбонат)



До розчину 1,1'-(4,4'-біфенілдііл)біс(2-бромоетанону) (155 мг, 0,39 ммол) та (3S)-2-[[фенілметил]окси]карбоніл-8-окса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонової кислоти (121) (275 мг, 0,86 ммол) у безводному ацетонітрилі (4 мл) додавали триетиламін (0,19 мл, 1,4 ммол), та розчин перемішували при кімнатній температурі під азотом протягом 3,5 год. Реакцію розподіляли між EtOAc та 0,1 N HCl (40 мл кожне), органічний шар промивали розсолем та сушили (MgSO₄) та концентрували у вакуумі. Залишок очищували хроматографією на силікагелі, елюючи 20-100% гексанами/EtOAc, що дало заголовну сполуку як білу тверду речовину (225 мг, 66% вихід).

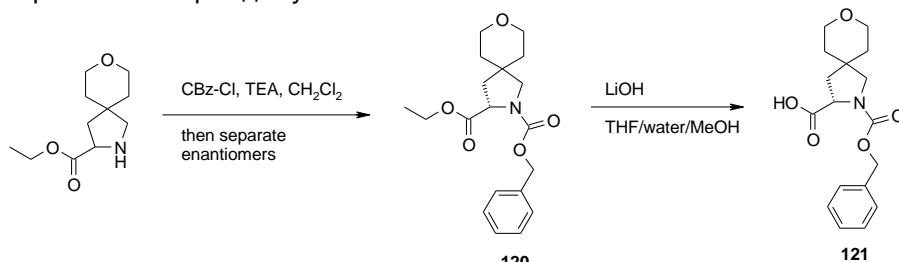
Інтермедіат 119: біс(фенілметил) (3S,3'S)-3,3'-[4,4'-біфенілдіілбіс(1H-імідазол-4,2-дііл)]біс(8-окса-2-азаспіро[4,5]декан-2-карбонат)



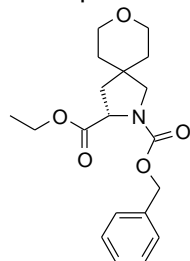
До розчину 3,3'-[4,4'-біфенілдіілбіс(2-оксо-2,1-етандііл)] 2,2'-біс(фенілметил) (3S,3'S)біс(-8-окса-2-азаспіро[4,5]декан-2,3-гідрогенкарбонату) (118) (225 мг, 0,26 ммол) у діоксані (3,5 мл)

додавали амоній ацетат (318 мг, 4,1 ммол). Реакцію дегазували азотом та нагрівали до 110 °C у герметизованій трубці протягом 18 год. Реакцію розподіляли між EtOAc та насич. NaHCO₃ (35 мл кожне), органічний шар промивали розсолем, сушили (MgSO₄) та концентрували у вакуумі, що дало заголовну сполуку з кількісним виходом.

5 Отримання інтермедиату 121

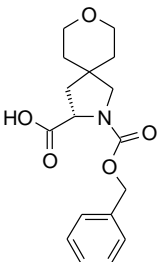


Інтермедіат 120: 3-етил 2-(фенілметил) (3S)-8-окса-2-азаспіро[4,5]декан-2,3-гідрогенкарбонат



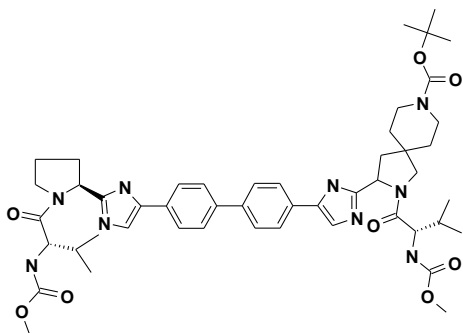
10 Етил 8-окса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонат (3,54 г, 16,6 ммол) розчиняли в сухому дихлорметані (80 мл), додавали триетиламін (5,8 мл, 41,5 ммол), а потім – бензилхлороформіат (3,5 мл, 24,9 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 2 год. під азотом. Реакцію розбавляли дихлорметаном, промивали 0,2 N HCl, сушили над MgSO₄ та концентрували у вакуумі. Залишок очищували хроматографією на силікагелі, елюючи 20-100% гексанами/EtOAc, що дало жовту олію. Рацемат потім відокремлювали хіральною ВЕРХ на колонці OD 10 мкм, елюючи 25% ізопропанолом у гексанах, що дало заголовну сполуку як прозору олію (1,66 г, 29% вихід).

15 Інтермедіат 121: (3S)-2-[(фенілметил)окси]карбоніл}-8-окса-2-азаспіро[4,5]декан-3-карбонова кислота



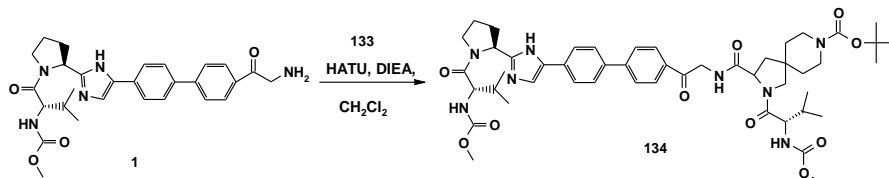
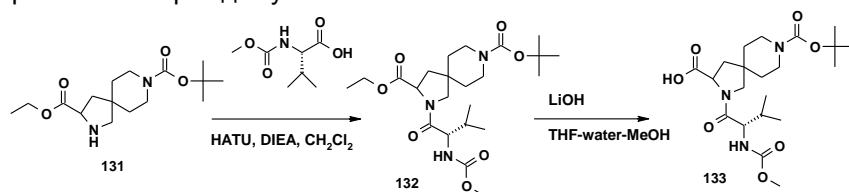
20 До розчину 3-етил 2-(фенілметил) (3S)-8-окса-2-азаспіро[4,5]декан-2,3-гідрогенкарбонату (120) (300 мг, 0,86 ммол) у ТГФ/воді/метанолі (3 мл/1,5 мл/1,5 мл) додавали літій гідроксид моногідрат (72 мг, 1,7 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 30 хвил. Реакцію обробляли 1N HCl (2 мл) та розподіляли між EtOAc та водою. Водний шар екстрагували EtOAc та органічний шар сушили над MgSO₄ та концентрували у вакуумі, що дало заголовну сполуку з кількісним виходом. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ мн⁻¹ 12,54 - 12,93 (m, 1 H) 7,21 - 7,47 (m, 5 H) 4,90 - 5,20 (m, 2 H) 4,11 - 4,41 (m, 1 H) 3,44 - 3,70 (m, 5 H) 3,24 (dd, J=15,0, 11,7 Гц, 1H) 2,32 (td, J=13,6, 8,5 Гц, 1H) 1,73 (ddd, J=16,8, 12,9, 7,2 Гц, 1H) 1,38 - 1,64 (m, 4H). РХ-МС EPI (M - H)⁻ = 318,19.

30 Приклад 19: 1,1-диметилетил 2-[N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл]-3-(4-{4'-[2-((2S)-1-[N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл]-2-піролідиніл)-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл}-1H-імідазол-2-іл)-2,8-діазаспіро[4,5]декан-8-карбонат

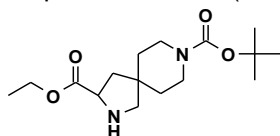


Розчин 1,1-диметилетил 2-((2S)-3-метил-2-[[[(метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл)-3-{{[2-(4'-
 {2-[(2S)-1-((2S)-3-метил-2-[[[(метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл)-2-піролідиніл]-1H-імідазол-4-іл]-
 4-біфеніліл)-2-оксоетил]аміно}карбоніл)-2,8-діазаспіро[4,5]декан-8-карбонату (134) (126 мг, 0,14
 5 ммол) та амоній ацетату (105 мг, 1,4 ммол) у безводному діоксані (1,5 мл) дегазували азотом та
 нагрівали у герметизованій трубці до 110 °С протягом 18 год. Реакцію концентрували у вакуумі
 та очищували ВЕРХ, елюючи 10-90% ацетонітрилом/водою/0,2% NH₄ОН, що дало заголовну
 сполуку як жовто-коричневу тверду речовину (84 мг, 68% вихід). ¹Н ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-
 d₄) δ мн⁻¹ 7,56 - 7,87 (m, 10 H) 7,31 (br. s., 2 H) 5,04 - 5,23 (m, 1 H) 4,11 - 4,32 (m, 2 H) 3,93 - 4,04
 10 (m, 1 H) 3,80 - 3,92 (m, 1 H) 3,63 (s, 6 H) 3,33 - 3,61 (m, 6 H) 1,86 - 2,49 (m, 9 H) 1,68 (br. s., 1 H)
 1,56 (br. s., 2 H) 1,37 - 1,49 (m, 9 H) 0,81 - 1,08 (m, 15 H). ВРМС для C₄₉H₆₅N₉O₈ (M + H)⁺
 розраховано: 908,5034, знайдено: 908,5031. Чистота (PX-МС): 93%.

Отримання інтермедіату 134

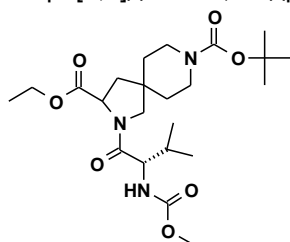


Інтермедіат 131: 8-(1,1-диметилетил) 3-етил 2,8-діазаспіро[4,5]декан-3,8-гідрогенкарбонат



Цю сполуку отримували як рацемат з 1,1-диметилетил 4-форміл-1-піперидинкарбонат за
 процедурою, описаною в WO 98/08850 стор. 50.

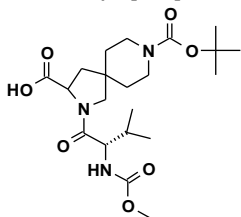
Інтермедіат 132: 8-(1,1-диметилетил) 3-етил 2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-2,8-
 діазаспіро[4,5]декан-3,8-гідрогенкарбонат



До розчину 8-(1,1-диметилетил) 3-етил 2,8-діазаспіро[4,5]декан-3,8-гідрогенкарбонату (131)
 (150 мг, 0,48 ммол), HATU (183 мг, 0,48 ммол) та N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіну (93 мг, 0,53
 ммол) у безводн. CH₂Cl₂ (4 мл) додавали основу Ханіга (0,17 мл, 0,96 ммол), та реакцію
 25 перемішували при кімнатній температурі під азотом протягом 2 год. Реакцію концентрували у
 вакуумі та очищували хроматографією на силікагелі, елюючи 15-80% гексанами/EtOAc, що дало

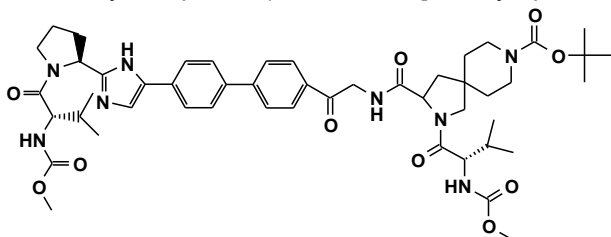
заголовну сполуку як білу жовту олію (125 мг, 55% вихід).

Інтермедіат 133: 8-[[[(1,1-диметилетил)окси]карбоніл]-2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-2,8-діазаспіро[4,5]декан-3-карбонова кислота



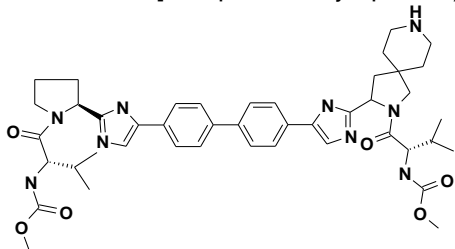
- 5 До розчину 8-(1,1-диметилетил) 3-етил 2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-2,8-діазаспіро[4,5]декан-3,8-гідрогенкарбонату (132) (125 мг, 0,27 ммол) у ТГФ/воді/MeOH (1,2 мл/0,6 мл/0,6 мл) додавали літій гідроксид моногідрат (22 мг, 0,53 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 1,5 год. Реакцію обробляли 1N HCl (0,5 мл) та розподіляли між EtOAc та 0,1 N HCl (10 мл кожне) та водний шар екстрагували EtOAc (10 мл).
- 10 Органічні шари комбінували та сушили (MgSO₄) та концентрували у вакуумі, що дало заголовну сполуку як білу тверду речовину (107 мг, 91% вихід). ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млі⁻¹ 12,29 - 12,54 (m, 1 H) 7,08 - 7,44 (m, 1 H) 4,47 (t, J=5,4 Гц, 1 H) 4,13 - 4,30 (m, 1 H) 3,86 - 4,13 (m, 3 H) 3,45 - 3,58 (m, 3 H) 3,16 - 3,27 (m, 2 H) 2,64 (br. s., 1 H) 2,15 - 2,31 (m, 1 H) 1,81 - 1,95 (m, 1 H) 1,43 - 1,67 (m, 3 H) 1,29 - 1,43 (m, 11 H) 0,69 - 1,03 (m, 6 H). PX-МС EPI (M - H)⁻ = 440,59.

- 15 Інтермедіат 134: 1,1-диметилетил 2-((2S)-3-метил-2-[[[(метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл]-3-((2-((4'-[2-((2S)-1-((2S)-3-метил-2-[[[(метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл)-2-піролідиніл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-2-оксоетил]аміно]карбоніл)-2,8-діазаспіро[4,5]декан-8-карбонат



- 20 До розчину 8-[[[(1,1-диметилетил)окси]карбоніл]-2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-2,8-діазаспіро[4,5]декан-3-карбонової кислоти (133) (106 мг, 0,24 ммол), НАТУ (91 мг, 0,24 ммол) та метил {{(1S)-1-[[[(2S)-2-[4-[4'-(аміноацетил)-4-біфеніліл]-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл]карбоніл]-2-метилпропіл]карбамату дигідрогенхлориду(1) (138 мг, 0,24 ммол) у безводн. CH₂Cl₂ (4 мл) додавали основу Ханіга (0,17 мл, 0,96 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі під азотом протягом 1 год. Реакцію концентрували у вакуумі та очищували ВЕРХ, елюючи 10-90% ацетонітрилом/водою/0,2% NH₄OH, що дало заголовну сполуку як не зовсім білу тверду речовину (129 мг, 58% вихід).

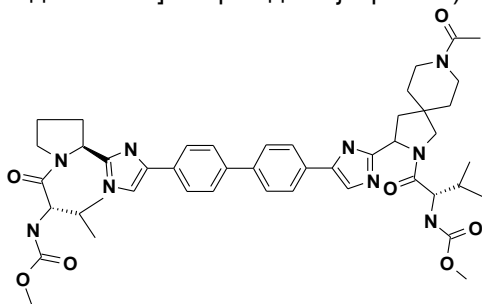
- 25 Приклад 20: метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-[2-((2S)-3-метил-2-[[[(метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл)-2,8-діазаспіро[4,5]декан-3-іл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл]карбоніл)пропіл]карбамат.



- 30 До розчину 1,1-диметилетил 2-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-3-(4-{4'-[2-((2S)-1-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-2-піролідиніл)-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл}-1H-імідазол-2-іл)-2,8-діазаспіро[4,5]декан-8-карбонату (68 мг, 0,08 ммол) у безводн. CH₂Cl₂ (1 мл) додавали трифлуорооцтову кислоту (0,3 мл), та реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 2 год. Реакцію концентрували у вакуумі та очищували ВЕРХ, елюючи 10-90% ацетонітрилом/водою/0,2% NH₄OH, що дало заголовну сполуку як жовто-коричневу тверду речовину (49 мг, 81% вихід). ¹H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-d₄) δ млі⁻¹ 7,56 - 7,83 (m, 10 H) 7,31 (br. s., 2 H) 5,00 - 5,22 (m, 2 H) 4,12 - 4,30 (m, 3 H) 4,01 (br. s., 1 H) 3,80 - 3,91 (m, 1 H) 3,57 - 3,70 (m, 6 H) 2,76 - 3,07 (m, 4 H) 1,89 - 2,48 (m, 10 H) 1,69 - 1,81 (m, 1 H) 1,61 (br. s., 2 H) 0,82 - 1,09
- 35

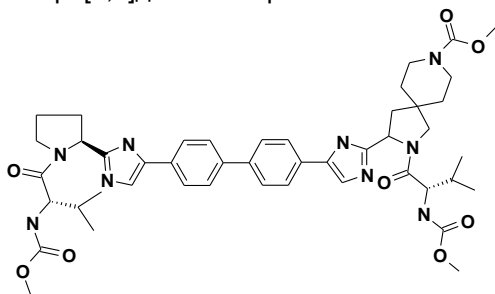
(m, 15 H). ВРМС для $C_{44}H_{58}N_9O_6$ (M + H)⁺ розраховано: 808,4510, знайдено: 808,4509. Чистота (PX-MC): 94%.

Приклад 21: метил[(1S)-1-((2S)-2-[4-(4'-(2-[8-ацетил-2-((2S)-3-метил-2-
5 {{{метилокси}карбоніл}аміно}бутаноіл)-2,8-діазаспіро[4,5]дец-3-іл)-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніліл)-
1H-імідазол-2-іл)-1-піролідиніл}карбоніл)-2-метилпропіл}карбамат



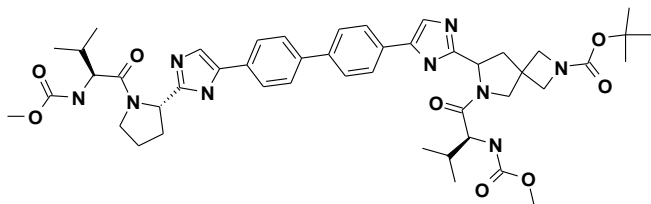
До розчину метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-[2-[2-((2S)-3-метил-2-
 10 {{{метилокси)карбоніл}аміно}бутаноіл)-2,8-діазаспіро[4,5]дец-3-іл]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніл)-
 1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл}карбоніл)пропіл]карбамату (приклад 20) (19 мг, 0,02 ммол) у
 безводн. CH₂Cl₂ (0,5 мл) додавали триетиламін (0,016 мл, 0,12 ммол), а потім – ацетил хлорид
 (0,01 мл, 0,14 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 1 год.
 Реакцію концентрували у вакуумі та розчиняли в метанол (0,7 мл), до цього додавали калій
 карбонат (30 мг, 0,22 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 2 год.
 Реакцію концентрували у вакуумі та розподіляли між CH₂Cl₂ та водою (3 мл кожне), водний шар
 15 екстрагували CH₂Cl₂ (3 мл) та органічні шари комбінували та сушили (MgSO₄) і концентрували у
 вакуумі, що дало заголовну сполуку як жовту тверду речовину (18 мг, 90% вихід). ¹H ЯМР (400
 МГц, МЕТАНОЛ-d₄) δ мн⁻¹ 7,54 - 7,88 (m, 10 H) 7,32 (br. s., 2 H) 5,05 - 5,23 (m, 2 H) 4,03 - 4,34
 (m, 2 H) 3,71 - 4,03 (m, 3 H) 3,56 - 3,71 (m, 8 H) 3,34 - 3,56 (m, 2 H) 2,14 - 2,46 (m, 4 H) 1,89 - 2,14
 (m, 6 H) 1,46 - 1,83 (m, 4 H) 1,19 - 1,32 (m, 2 H) 0,78 - 1,07 (m, 14 H). ВРМС для C₄₆H₆₀N₉O₇ (M +
 20 H)⁺ розраховано: 850,4616, знайдено: 850,4617. Чистота (PX-MC): 94%.

Приклад 22: метил 2-N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл)-3-(4-{4'-[2-((2S)-1-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл)-2-піролідиніл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл}-1H-імідазол-2-іл)-2,8-діазаспіро[4.5]декан-8-карбонат



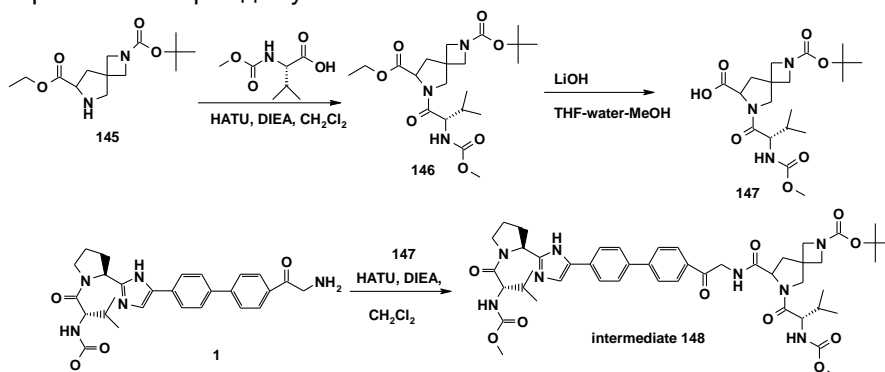
25 До розчину метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-[2-[2-((2S)-3-метил-2-
 {[(метилокси)карбоніл]аміно}бутаноіл)-2,8-діазаспіро[4,5]дец-3-іл]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніліл)-
 1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл}карбоніл)пропіл]карбамату (приклад 20) (19 мг, 0,02 ммол) у
 безводн. CH₂Cl₂ (0,5 мл) додавали триетиламін (0,016 мл, 0,12 ммол), а потім – ацетилхлорид
 (0,011 мл, 0,14 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 1 год.
 30 Реакцію концентрували у вакуумі та розчиняли в метанолі (0,7 мл), до цього додавали калій
 карбонат (30 мг, 0,22 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 2 год.
 Реакцію концентрували у вакуумі та розподіляли між CH₂Cl₂ та водою (3 мл кожне) та водний
 шар екстрагували CH₂Cl₂ (3 мл), органічні шари комбінували та сушили (MgSO₄) та
 концентрували у вакуумі, що дало заголовну сполуку як жовту тверду речовину (15 мг, 74%
 35 вихід). ¹H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-d₄) δ мн⁻¹ 7,51 - 7,92 (m, 10 H) 7,32 (br. s., 2 H) 5,02 - 5,25
 (m, 1 H) 4,03 - 4,31 (m, 2 H) 3,75 - 4,05 (m, 2 H) 3,61 - 3,72 (m, 7 H) 3,34 - 3,60 (m, 4 H) 1,82 - 2,50
 (m, 7 H) 1,70 (br. s., 2 H) 1,44 - 1,63 (m, 4 H) 1,27 (br. s., 4 H) 0,77 - 1,10 (m, 14 H). ВРМС для
 C₄₆H₆₀N₉O₈ (M + H)⁺ розраховано: 866,4565, знайдено: 850,4564. Чистота (PX-MC): 96%.

Приклад 23: 1,1-диметилетил 6-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-7-(4-{4'-[2-((2S)-1-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-2-піролідиніл)-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл}-1H-імідазол-2-іл)-2,6-діазаспіро[3,4]октан-2-карбонат

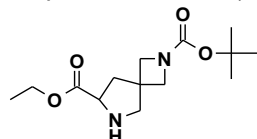


Розчин 1,1-диметилетил 6-((2S)-3-метил-2-[[[(метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл]-7-[[2-(4'-
 {2-[(2S)-1-((2S)-3-метил-2-[[[(метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл]-2-піролідиніл]-1H-імідазол-4-іл]-
 4-біфенілil)-2-оксоетил]аміно]карбоніл)-2,6-діазаспіро[3,4]октан-2-карбонату (148) (400 мг, 0,45
 5 ммол) та амоній ацетату (343 мг, 4,5 ммол) у безводному діоксані (5 мл) дегазували азотом та
 нагрівали у герметизованій трубці до 110 °C протягом 18 год. Реакцію розбавляли EtOAc та
 фільтрували й концентрували у вакуумі. Залишок очищували C₁₈ реверсно-фазовою
 хроматографією, елюючи 10-100% ацетонітрилом/водою/0,2% NH₄OH, що дало заголовну
 сполуку як бліду жовту тверду речовину (315 мг, 80% вихід). ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ мн⁻¹
 11,63 - 12,35 (m, 1 H) 7,47 - 7,92 (m, 9 H) 7,19 - 7,42 (m, 1 H) 5,08 (br. s., 2 H) 3,94 - 4,23 (m, 4 H)
 10 3,62 - 3,93 (m, 7 H) 3,56 (s, 6 H) 2,24 - 2,45 (m, 2 H) 2,14 (br. s., 2 H) 1,77 - 2,07 (m, 6 H) 1,37 (d,
 J=5,5 Гц, 9 H) 0,76 - 1,02 (m, 12 H). ВРМС для C₄₇H₆₂N₉O₈ (M + H)⁺ розраховано: 880,4721,
 знайдено: 880,4725. Чистота (PX-МС): 95%.

Отримання інтермедіату 148

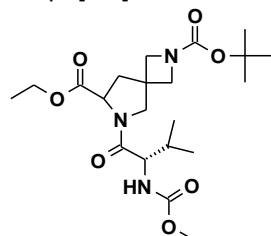


Інтермедіат 145: 2-(1,1-диметилетил) 7-етил 2,6-діазаспіро[3,4]октан-2,7-гідрогенкарбонат



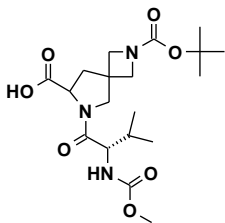
Цю сполуку отримували з 1,1-диметилетил 3-форміл-1-азетидинкарбонату (650 мг, 3,5
 ммол) з виходом 93% способом, аналогічним отриманню інтермедіату 131 в прикладі 19.

Інтермедіат 146: 2-(1,1-диметилетил) 7-етил 6-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-2,6-
 діазаспіро[3,4]октан-2,7-гідрогенкарбонат



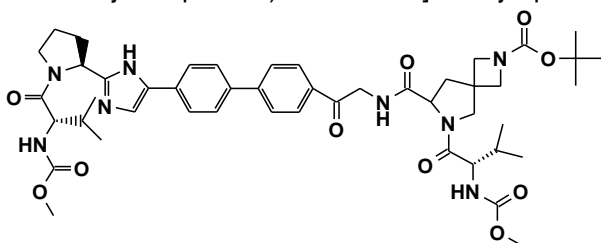
До розчину 2-(1,1-диметилетил) 7-етил 2,6-діазаспіро[3,4]октан-2,7-гідрогенкарбонату (145)
 (500 мг, 1,76 ммол), HATU (735 мг, 1,93 ммол) та N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіну (339 мг, 1,93
 25 ммол) у безводн. CH₂Cl₂ (10 мл) додавали основу Ханіга (0,68 мл, 3,87 ммол), та реакцію
 перемішували при кімнатній температурі під азотом протягом 2 год. Реакцію концентрували у
 вакуумі та очищували C₁₈ реверсно-фазовою хроматографією, елюючи 10-90%
 ACN/водою/0,2% NH₄OH, що дало заголовну сполуку як не зовсім білу тверду речовину (398 мг,
 51% вихід).

Інтермедіат 147: 2-[[[(1,1-диметилетил)окси]карбоніл]-6-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-
 2,6-діазаспіро[3,4]октан-7-карбонова кислота



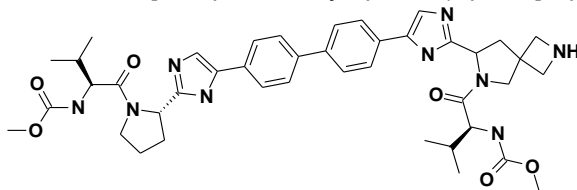
До розчину 2-(1,1-диметилетил) 7-етил 6-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-2,6-діазаспіро[3,4]октан-2,7-гідрогенкарбонату (146) (344 мг, 0,78 ммол) у ТГФ/воді/метанолі (3 мл/1,5 мл/1,5 мл) додавали літій гідроксид моногідрат (65 мг, 1,56 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 1,5 год., після чого обробляли 1N HCl (1,5 мл). Реакцію розподіляли між EtOAc та водою (30 мл кожне), водний шар екстрагували EtOAc (30 мл), органічні шари комбінували та сушили (MgSO₄) і концентрували у вакуумі, що дало заголовну сполуку як білу тверду речовину (245 мг, 76% вихід). ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн⁻¹ 12,46 (br. s., 1 H) 7,06 - 7,66 (m, 1 H) 4,13 - 4,32 (m, 1 H) 3,88 - 4,12 (m, 2 H) 3,56 - 3,89 (m, 5 H) 3,39 - 3,57 (m, 3 H) 2,24 - 2,45 (m, 1 H) 1,99 - 2,19 (m, 1 H) 1,80 - 1,95 (m, 1 H) 1,26 - 1,44 (m, 9 H) 0,56 - 1,00 (m, 6 H). PX-МС EPI (M - H)⁻ = 412,41.

Інтермедіат 148: 1,1-диметилетил 6-((2S)-3-метил-2-[[[(метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл]-7-((2-((4'-{2-[(2S)-1-((2S)-3-метил-2-[[[(метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл]-2-піролідиніл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-2-оксоетил]аміно}карбоніл)-2,6-діазаспіро[3,4]октан-2-карбонат



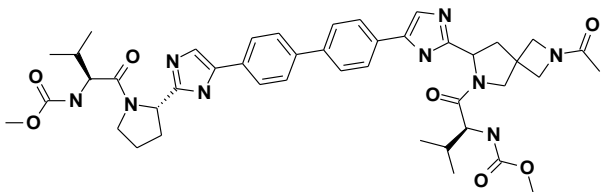
До розчину 2-[[[(1,1-диметилетил)окси]карбоніл]-6-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-2,6-діазаспіро[3,4]октан-7-карбонової кислоти (147) (245 мг, 0,59 ммол), НАТУ (225 мг, 0,59 ммол) та метил {{(1S)-1-[[[(2S)-2-[4-{4'-(аміноацетил)-4-біфеніліл]-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл]карбоніл]-2-метилпропіл}карбамату дигідрогенхлориду(1) (342 мг, 0,59 ммол) у безводн. CH₂Cl₂ (6 мл) додавали основу Ханіга (0,41 мл, 2,37 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі під азотом протягом 1 год. Реакцію концентрували у вакуумі та очищували C₁₈ реверсно-фазовою хроматографією, елюючи 10-100% ацетонітрилом/водою/0,2% NH₄OH, що дало заголовну сполуку як не зовсім білу тверду речовину (400 мг, 75% вихід).

Приклад 24: метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-{4'-{2-[6-((2S)-3-метил-2-[[[(метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл]-2,6-діазаспіро[3,4]окт-7-ил]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл}карбоніл)пропіл]карбамат



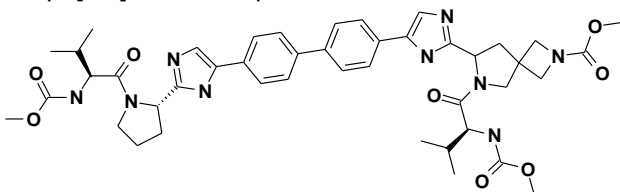
Цю сполуку отримували в умовах як у прикладі 20 з 1,1-диметилетил 6-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-7-(4-{4'-[2-((2S)-1-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-2-піролідиніл)-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-2,6-діазаспіро[3,4]октан-2-карбонату (298 мг, 0,34 ммол), що дало заголовну сполуку як жовту тверду речовину (203 мг, 77% вихід). ¹H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-d₄) δ млн⁻¹ 7,43 - 7,86 (m, 8 H) 7,04 - 7,42 (m, 2 H) 5,20 - 5,41 (m, 1 H) 5,01 - 5,19 (m, 2 H) 4,30 - 4,43 (m, 1 H) 4,12 - 4,27 (m, 3 H) 3,78 - 4,03 (m, 5 H) 3,65 - 3,78 (m, 4 H) 3,61 - 3,64 (m, 6 H) 3,39 - 3,52 (m, 1 H) 2,54 - 2,77 (m, 1 H) 2,38 - 2,54 (m, 1 H) 2,09 - 2,39 (m, 2 H) 1,89 - 2,13 (m, 4 H) 0,81 - 1,13 (m, 12 H). ВРМС для C₄₂H₅₄N₉O₆ (M + H)⁺ розраховано: 780,4197, знайдено: 780,4200. Чистота (PX-МС): 96%.

Приклад 25: метил[(1S)-1-((2S)-2-[4-{4'-{2-[2-ацетил-6-((2S)-3-метил-2-[[[(метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл]-2,6-діазаспіро[3,4]окт-7-ил]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл}карбоніл)-2-метилпропіл]карбамат



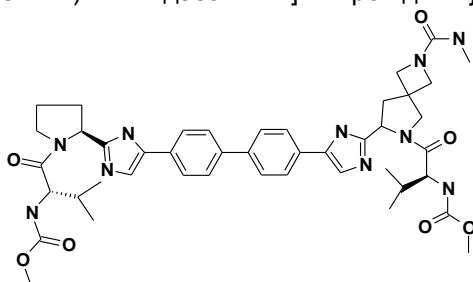
Цю сполуку отримували в умовах як у прикладі 21 із метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[6-((2S)-3-метил-2-((метилокси)карбоніл)аміно)бутаноіл)-2,6-діазаспіро[3,4]окт-7-ил]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл)пропіл]карбамату прикладу 24 (40 мг, 0,05 ммол), що дало заголовну сполуку як жовту тверду речовину (35 мг, 83% вихід). ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ млн $^{-1}$ 11,67 - 12,33 (m, 1 H) 7,19 - 7,99 (m, 12 H) 5,07 (br. s., 1 H) 3,92 - 4,25 (m, 4 H) 3,67 - 3,94 (m, 4 H) 3,45 - 3,66 (m, 8 H) 2,20 - 2,46 (m, 3 H) 2,17 (br. s., 2 H) 1,80 - 2,06 (m, 5 H) 1,60 - 1,82 (m, 3 H) 0,78 - 1,02 (m, 12 H). ВРМС для $\text{C}_{44}\text{H}_{56}\text{N}_9\text{O}_7$ ($\text{M} + \text{H}$) $^+$ розраховано: 822,4303, знайдено: 822,4300. Чистота (PX-МС): 91%.

Приклад 26: метил 6-[N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл]-7-(4-{4'-[2-((2S)-1-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл]-2-піролідиніл)-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніл)-1H-імідазол-2-іл]-2,6-діазаспіро[3,4]октан-2-карбонат



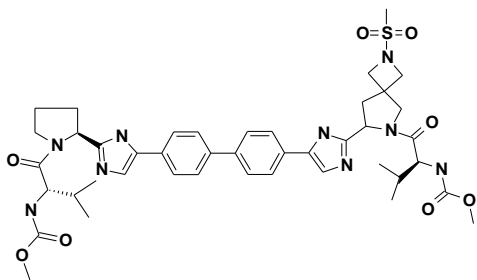
Цю сполуку отримували в умовах як у прикладі 22 із метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[6-((2S)-3-метил-2-((метилокси)карбоніл)аміно)бутаноіл)-2,6-діазаспіро[3,4]окт-7-ил]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл)пропіл]карбамату (приклад 24) (40 мг, 0,05 ммол), що дало заголовну сполуку як жовту тверду речовину (37 мг, 87% вихід). ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ млн $^{-1}$ 11,38 - 12,37 (m, 1 H) 7,58 - 7,93 (m, 8 H) 7,19 - 7,59 (m, 3 H) 4,93 - 5,17 (m, 1 H) 3,63 - 4,22 (m, 7 H) 3,45 - 3,64 (m, 6 H) 2,24 - 2,48 (m, 4 H) 2,08 (br. s., 4 H) 1,79 - 2,07 (m, 6 H) 0,99 - 1,18 (m, 1 H) 0,75 - 0,97 (m, 14 H). ВРМС для $\text{C}_{44}\text{H}_{56}\text{N}_9\text{O}_8$ ($\text{M} + \text{H}$) $^+$ розраховано: 838,4252, знайдено: 838,4252. Чистота (PX-МС): 87%.

Приклад 27: метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[2-[(метиламіно)карбоніл]-6-((2S)-3-метил-2-((метилокси)карбоніл)аміно)бутаноіл)-2,6-діазаспіро[3,4]окт-7-ил]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл)пропіл]карбамат

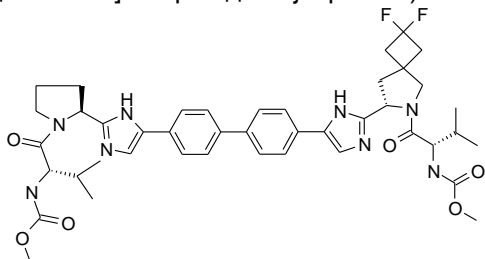


До розчину метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[6-((2S)-3-метил-2-((метилокси)карбоніл)аміно)бутаноіл)-2,6-діазаспіро[3,4]окт-7-ил]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл)пропіл]карбамату (приклад 24) (45 мг, 0,06 ммол) у безводн. CH_2Cl_2 (0,6 мл) додавали метил ізоціанат (0,01 мл, 0,17 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 2 год. Розчинник видаляли у вакуумі та залишок розчиняли в метанолі (1 мл) і додавали калій карбонат (40 мг, 0,29 ммол), реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 18 год. Реакцію розподіляли між CH_2Cl_2 (10 мл) та водою (5 мл), водний шар екстрагували CH_2Cl_2 (5 мл), органічні шари комбінували та сушили (MgSO_4) та концентрували у вакуумі, що дало заголовну сполуку як жовту тверду речовину (34 мг, 70% вихід). ^1H ЯМР (400 МГц, METANOL-d_4) δ млн $^{-1}$ 7,64 (br. s., 10 H) 7,33 (br. s., 2 H) 5,06 - 5,22 (m, 1 H) 4,03 - 4,46 (m, 3 H) 3,73 - 4,04 (m, 8 H) 3,54 - 3,73 (m, 6 H) 3,46 (q, $\text{J}=7,0$ Гц, 2 H) 2,52 - 2,76 (m, 5 H) 2,10 - 2,53 (m, 4 H) 2,02 (br. s., 3 H) 0,70 - 1,09 (m, 12 H). ВРМС для $\text{C}_{44}\text{H}_{57}\text{N}_{10}\text{O}_7$ ($\text{M} + \text{H}$) $^+$ розраховано: 837,4412, знайдено: 838,4416. Чистота (PX-МС): 91%.

Приклад 28: метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[6-((2S)-3-метил-2-((метилокси)карбоніл)аміно)бутаноіл)-2-(метилсульфоніл)-2,6-діазаспіро[3,4]окт-7-ил]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл)пропіл]карбамат

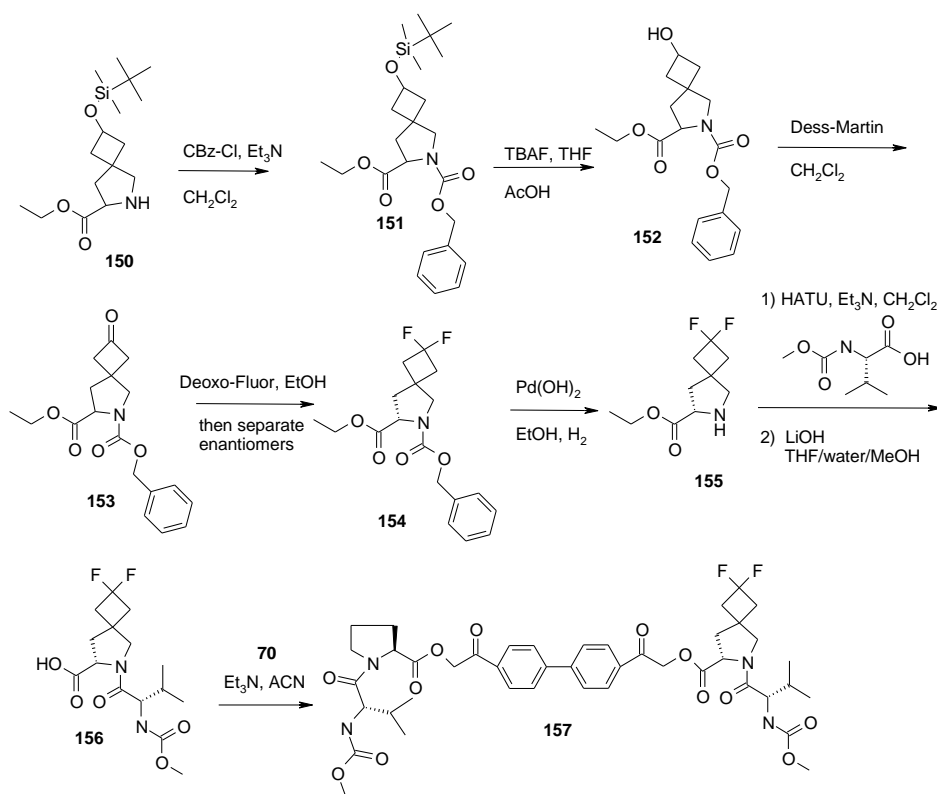


До розчину метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[6-((2S)-3-метил-2-
 5 {{{метилокси}карбоніл}аміно}бутаноіл)-2,6-діазспіро[3,4]окт-7-ил]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніліл)-
 1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл}карбоніл)пропіл]карбамату (приклад 24) (60 мг, 0,08 ммол) у
 безводн. CH₂Cl₂ (1 мл) додавали триетиламін (0,054 мл, 0,39 ммол), та реакцію охолоджували
 до 0 °C. Додавали метансульфонілхлорид (0,018 мл, 0,23 ммол), та реакцію перемішували при
 0 °C протягом 15 хвил.. Розчинник видаляли у вакуумі та залишок розчиняли в метанолі (1 мл),
 додавали калій карбонат (80 мг, 0,58 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі
 10 протягом 1,5 год. Реакцію розподіляли між CH₂Cl₂ (10 мл) та водою (10 мл) органічний шар
 сушили (MgSO₄) та концентрували у вакуумі, що дало заголовну сполуку як жовто-коричневу
 тверду речовину (57 мг, 86% вихід). ¹H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-d₄) δ млн⁻¹ 7,50 - 7,86 (m, 10 H)
 7,33 (br. s., 2 H) 5,06 - 5,21 (m, 1 H) 4,04 - 4,26 (m, 2 H) 3,75 - 4,05 (m, 6 H) 3,56 - 3,72 (m, 6 H)
 3,38 - 3,55 (m, 2 H) 2,84 - 3,04 (m, 3 H) 2,70 - 2,86 (m, 1 H) 2,40 - 2,64 (m, 1 H) 2,10 - 2,40 (m, 3 H)
 1,83 - 2,09 (m, 2 H) 1,20 - 1,37 (m, 2 H) 1,07 - 1,20 (m, 2 H) 0,81 - 1,07 (m, 12 H). ВРМС для
 15 C₄₃H₅₆N₉O₈S (M + H)⁺ розраховано: 858,3973, знайдено: 858,3975. Чистота (PX-МС): 86%.
 Приклад 29: метил[(1S)-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[6-((2S)-3-метил-2-
 {{{метилокси}карбоніл}аміно}бутаноіл)-6-азаспіро[3,4]окт-7-ил]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніліл)-1H-
 імідазол-2-іл]-1-піролідиніл}карбоніл)-2-метилпропіл]карбамат

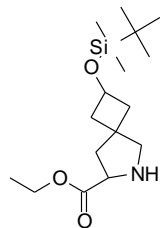


До розчину 2-{4'-[(((2S)-1-((2S)-3-метил-2-{{{метилокси}карбоніл}аміно}бутаноіл)-2-
 20 піролідиніл]карбоніл)окси)ацетил]-4-біфеніліл}-2-оксоетил (7S)-2,2-дифлуоро-6-((2S)-3-метил-2-
 {{{метилокси}карбоніл}аміно}бутаноіл)-6-азаспіро[3,4]октан-7-карбонату (157) (102 мг, 0,12
 ммол) у безводному діоксані (1,2 мл) додавали амоній ацетат (184 мг, 2,4 ммол), та реакцію
 нагрівали до 110 °C протягом 4 год. Реакцію розподіляли між EtOAc та насичен. NaHCO₃,
 25 органічний шар промивали розсолон та сушили над MgSO₄ і концентрували у вакуумі. Залишок
 очищували C₁₈ реверсно-фазовою хроматографією, елюючи 10-100%
 ацетонітрилом/водою/0,2% NH₄OH, що дало заголовну сполуку як жовту тверду речовину (68
 мг, 69% вихід). ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ млн⁻¹ 11,42 - 12,37 (m, 2 H) 7,56 - 7,90 (m, 8 H) 7,51
 (s, 2 H) 7,19 - 7,46 (m, 2 H) 4,73 - 5,39 (m, 2 H) 3,91 - 4,23 (m, 3 H) 3,82 (br. s., 2 H) 3,54 (s, 6 H)
 2,55 - 2,86 (m, 4 H) 2,20 - 2,45 (m, 2 H) 2,14 (br. s., 2 H) 1,73 - 2,09 (m, 5 H) 0,57 - 0,99 (m, 12 H).
 30 ВРМС для C₄₃H₅₃N₈O₆F₂ (M + H)⁺ розраховано: 815,4056, знайдено: 815,4059. Чистота (PX-МС):
 97%.

Отримання інтермедіату 157

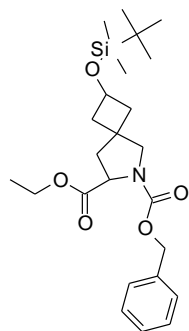


Інтермедіат 150: етил 2-[[[(1,1-диметилетил)(диметил)силіл]оксо]-6-азаспіро[3,4]октан-7-карбонат



- 5 Цю сполуку отримували способом аналогічним отриманню інтермедіату 110 (приклад 17) з 3-[[[(1,1-диметилетил)(диметил)силіл]оксо]циклобутанкарбальдегід (2,23 г, 10,4 ммол), що дало заголовну сполуку (2,97 г, 92% вихід) як жовту олію.

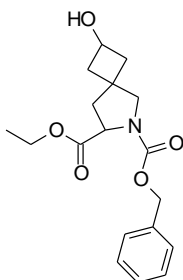
Інтермедіат 151: 7-етил 6-(фенілметил) 2-[[[(1,1-диметилетил)(диметил)силіл]оксо]-6-азаспіро[3,4]октан-6,7-гідрогенкарбонат



10

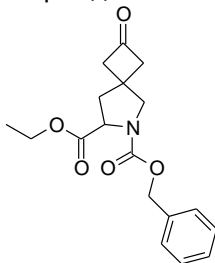
Цю сполуку отримували способом аналогічним отриманню інтермедіату 111 (приклад 17) з етил 2-[[[(1,1-диметилетил)(диметил)силіл]оксо]-6-азаспіро[3,4]октан-7-карбонату (150) (2,97 г, 9,5 ммол), що дало заголовну сполуку як жовту олію (1,87 г, 44% вихід).

Інтермедіат 152: 7-етил 6-(фенілметил) 2-гідрокси-6-азаспіро[3,4]октан-6,7-гідрогенкарбонат



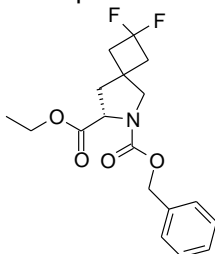
До розчину 7-етил 6-(фенілметил) 2-[[[(1,1-диметилетил)(диметил)силіл]оксо]-6-азаспіро[3,4]октан-6,7-гідрогенкарбонату (151) (1,87 г, 4,2 ммол) у ТГФ (20 мл) додавали льодяну оцтову кислоту (0,48 мл), а потім – ТБАФ (8,5 мл, 1М розчин у ТГФ), та реакцію нагрівали до 45 °С протягом 18 год. Реакцію концентрували у вакуумі та розподіляли між EtOAc та вод. Органічний шар промивали насичен. NaHCO₃, а потім – розсіл, та потім сушили над MgSO₄ та концентрували у вакуумі, що дало заголовну сполуку як прозору олію з кількісним виходом. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ мн⁻¹ 7,17 - 7,48 (m, 5 H) 4,83 - 5,15 (m, 3 H) 3,88 - 4,34 (m, 4 H) 3,35 - 3,47 (m, 2 H) 2,02 - 2,39 (m, 3 H) 1,65 - 1,96 (m, 3 H) 1,00 - 1,22 (m, 3 H). PX-МС EPI (M + H)⁺ = 334,17.

Інтермедіат 153: 7-етил 6-(фенілметил) 2-оксо-6-азаспіро[3,4]октан-6,7-гідрогенкарбонат



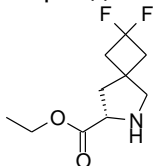
Цю сполуку отримували способом аналогічним отриманню інтермедіату 113 (приклад 17) з 7-етил 6-(фенілметил) 2-гідрокси-6-азаспіро[3,4]октан-6,7-гідрогенкарбонату (152) (1,39 г, 4,2 ммол), що дало заголовну сполуку (1,25 г, 90% вихід) як прозору олію.

Інтермедіат 154: 7-етил 6-(фенілметил) (7S)-2,2-дифлуоро-6-азаспіро[3,4]октан-6,7-гідрогенкарбонат



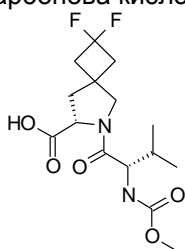
До розчину 7-етил 6-(фенілметил) 2-оксо-6-азаспіро[3,4]октан-6,7-гідрогенкарбонату (153) (1,25 г, 3,8 ммол) у безводному дихлорметані (20 мл) додавали деоксо-флуор (1,2 мл, 6,4 ммол), а потім – етанол (0,04 мл, 0,75 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі під азотом протягом 18 год. Реакцію заливали в насичен. NaHCO₃ та перемішували протягом 10 хвил. Суміш екстрагували дихлорметаном (2 X) та органічний шар промивали 0,1 N HCl і сушили над MgSO₄ та концентрували у вакуумі. Залишок очищували хроматографією на силікагелі, елюючи 5-50% гексанами/EtOAc. Рацемат потім відокремлювали хіральною ВЕРХ на колонці OD 10 мкм, елюючи 25% ізопропанолом у гексанах, що дало заголовну сполуку як прозору олію (356 мг, 30% вихід).

Інтермедіат 155: етил (7S)-2,2-дифлуоро-6-азаспіро[3,4]октан-7-карбонат



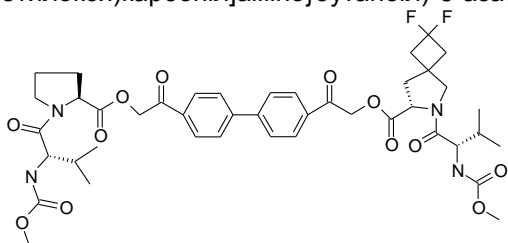
Цю сполуку отримували способом аналогічним отриманню інтермедіату 115 (приклад 17) з 7-етил 6-(фенілметил) (7S)-2,2-дифлуоро-6-азаспіро[3,4]октан-6,7-гідрогенкарбонату (14) (356 мг, 1,0 ммол), що дало заголовну сполуку як прозору олію (209 мг, 95% вихід).

Інтермедіат 156: (7S)-2,2-дифлуоро-6-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-6-азаспіро[3,4]октан-7-карбонова кислота



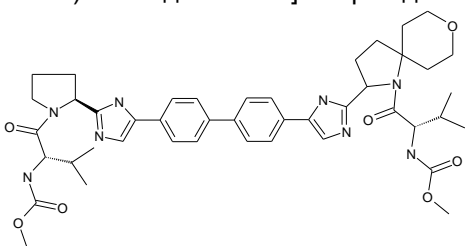
Цю сполуку отримували способом аналогічним отриманню інтермедіату 116 (приклад 17) з етил (7S)-2,2-дифлуоро-6-азаспіро[3,4]октан-7-карбонату (155) (207 мг, 0,94 ммол), що дало заголовну сполуку як білу тверду речовину (263 мг, 81% вихід). ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ млн $^{-1}$ 12,53 (br. s., 1 H) 7,46 (d, J=8,0 Гц, 1 H) 4,24 (t, J=7,8 Гц, 1 H) 4,02 (d, J=10,4 Гц, 1 H) 3,92 (t, J=8,5 Гц, 1 H) 3,62 (d, J=10,4 Гц, 1 H) 3,51 (s, 3 H) 2,54 - 2,78 (m, 4 H) 2,28 - 2,44 (m, 1 H) 1,81 - 2,05 (m, 2 H) 0,91 (dd, J=11,2, 6,7 Гц, 6 H). PX-MC EPI (M + H) $^+$ = 349,13.

Інтермедіат 157: 2-{4'-[({(2S)-1-((2S)-3-метил-2-[(метилокси)карбоніл]аміно)бутаноіл)-2-піролідиніл]карбоніл}окси)ацетил]-4-біфеніліл}-2-оксоетил (7S)-2,2-дифлуоро-6-((2S)-3-метил-2-[(метилокси)карбоніл]аміно)бутаноіл)-6-азаспіро[3,4]октан-7-карбонат



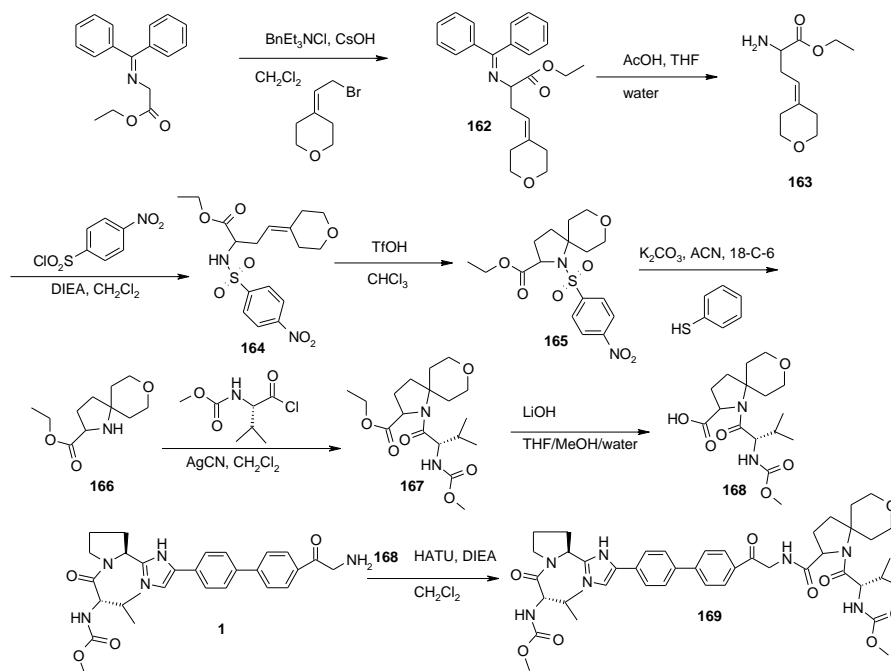
Цю сполуку отримували способом аналогічним отриманню інтермедіату 117 (приклад 17) з (7S)-2,2-дифлуоро-6-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-6-азаспіро[3,4]октан-7-карбонової кислоти (156) (59 мг, 0,17 ммол) та 2-[4'-(бромоацетил)-4-біфеніліл]-2-оксоетил N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл-L-пролінату (70) (95 мг, 0,16 ммол), що дало заголовну сполуку як білу тверду речовину (104 мг, 75 % вихід).

Приклад 30: метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[1-((2S)-3-метил-2-[(метилокси)карбоніл]аміно)бутаноіл)-8-окса-1-азаспіро[4,5]дец-2-іл]-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл]карбоніл)пропіл]карбамат

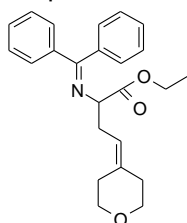


До розчину метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-{1-((2S)-3-метил-2-[(метилокси)карбоніл]аміно)бутаноіл)-8-окса-1-азаспіро[4,5]дец-2-іл]карбоніл}аміно)ацетил]-4-біфеніліл]-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл]карбоніл)пропіл]карбамату (169) (71 мг, 0,09 ммол) у безводному діоксані (1 мл) додавали амоній ацетат (66 мг, 0,86 ммол), та реакцію дегазували азотом та нагрівали до 110 °C протягом 48 год. у герметизованій трубці. Реакцію очищували ВЕРХ, елюючи 10-90% водою/ацетонітрилом/0,2% NH_4OH , що дало заголовну сполуку як не зовсім білу тверду речовину (10 мг, 14% вихід). ^1H ЯМР (400 МГц, METANOL-d_4) δ млн $^{-1}$ 7,56 - 7,86 (m, 9 H) 7,16 - 7,44 (m, 2 H) 6,88 - 7,09 (m, 1 H) 5,72 (br. s., 1 H) 5,09 - 5,21 (m, 1 H) 4,03 - 4,28 (m, 1 H) 3,80 - 4,04 (m, 6 H) 3,42 - 3,71 (m, 9 H) 2,11 - 2,56 (m, 8 H) 1,88 - 2,11 (m, 6 H) 0,80 - 1,06 (m, 12 H). ВРМС для $\text{C}_{44}\text{H}_{57}\text{N}_8\text{O}_7$ (M + H) $^+$ розраховано: 809,4350, знайдено: 809,4347. Чистота (PX-MC): 93%.

Отримання інтермедіату 169

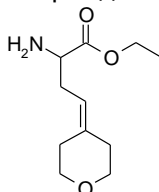


Інтермедіат 162: етил 2-[(дифенілметиліден)аміно]-4-(тетрагідро-4Н-піран-4-іліден)бутаноат



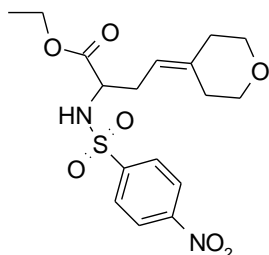
До розчину етил N-(дифенілметиліден)гліцинату (5,29 г, 19,8 ммол), бензилтриетиламоній хлориду (0,41 г, 1,8 ммол) та цезій гідроксиду моногідрату (4,54 г, 27,0 ммол) у безводному дихлорметані (50 мл) додавали 4-(2-бромоетиліден)тетрагідро-2Н-піран (3,44 г, 18,0 ммол) як розчин у безводному дихлорметані (40 мл), та реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 72 год. під азотом. Реакцію розподіляли між дихлорметаном та водою, та водний шар екстрагували дихлорметаном. Органічний шар сушили над натрій сульфатом та концентрували у вакуумі. Залишок очищували хроматографією на силікагелі, елюючи 5-40% гексанами/EtOAc, що дало заголовну сполуку як прозору олію з кількісним виходом.

Інтермедіат 163: етил 2-аміно-4-(тетрагідро-4Н-піран-4-іліден)бутаноат



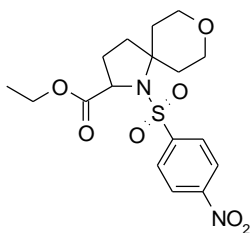
До розчину етил 2-[(дифенілметиліден)аміно]-4-(тетрагідро-4Н-піран-4-іліден)бутаноату (162) (6,8 г, 18,0 ммол) у ТГФ (30 мл) додавали воду (30 мл) та льодяну оцтову кислоту (20 мл), та реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 2,5 год. Реакцію концентрували у вакуумі та залишок розчиняли в 0,1 N HCl. Це екстрагували двічі етилацетатом, та органічний шар відкидали. До водного шару додавали твердий калій карбонат до блакитної фарбування рН-паперу. Водний шар екстрагували 15% ізопропанолу/дихлорметаном (3 X), та органічний шар сушили над натрій сульфатом та концентрували у вакуумі, що дало заголовну сполуку як прозору олію (3,05 г, 79% вихід).

Інтермедіат 164: етил 2-[[4-нітрофеніл)сульфоніл]аміно]-4-(тетрагідро-4Н-піран-4-іліден)бутаноат



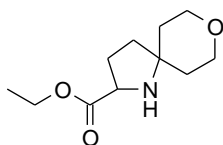
До розчину етил 2-аміно-4-(тетрагідро-4Н-піран-4-іліден)бутаноату (163) (1,0 г, 4,7 ммол) у безводному дихлорметані (30 мл) додавали основу Ханіга (1,6 мл, 9,4 ммол), а потім – 4-нітробензолсульфоніл хлорид (1,14 г, 5,2 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі під азотом протягом 2 год. Реакцію розбавляли дихлорметаном та промивали 0,1 N HCl, органічний шар сушили над $MgSO_4$ та концентрували у вакуумі. Залишок очищували хроматографією на силікагелі, елюючи 10-70% гексанами/EtOAc, що дало заголовну сполуку як не зовсім білу тверду речовину з кількісним виходом.

Інтермедіат 165: етил 1-[(4-нітрофеніл)сульфоніл]-8-окса-1-азаспіро[4,5]декан-2-карбонат



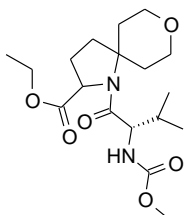
До розчину етил 2-[[4-нітрофеніл)сульфоніл]аміно]-4-(тетрагідро-4Н-піран-4-іліден)бутаноату (164) (1,87 г, 4,7 ммол) у безводному хлороформі (47 мл) додавали трифлуорометансульфонову кислоту (0,2 мл, 2,3 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі під азотом протягом 4 год. Реакцію розбавляли дихлорметаном та промивали насичен. $NaHCO_3$, та органічний шар сушили над $MgSO_4$ і концентрували у вакуумі. Залишок очищували хроматографією на силікагелі, елюючи 10-70% гексанами/EtOAc, що дало заголовну сполуку як білу тверду речовину (1,47 г, 79% вихід). 1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ млн $^{-1}$ 8,19 - 8,36 (m, 2 H) 8,08 (d, J=8,8 Гц, 2 H) 4,52 (dd, J=8,5, 2,1 Гц, 1 H) 3,99 - 4,14 (m, 2 H) 3,87 - 3,99 (m, 2 H) 3,21 - 3,49 (m, 2 H) 2,58 - 2,78 (m, 2 H) 2,10 - 2,30 (m, 2 H) 1,89 - 2,06 (m, 2 H) 1,77 (dd, J=13,0, 2,1 Гц, 1 H) 1,35 (dd, J=12,9, 1,6 Гц, 1 H) 1,22 (t, J=7,1 Гц, 3 H). PX-МС EPI (M + H) $^{+}$ = 399,47.

Інтермедіат 166: етил 8-окса-1-азаспіро[4,5]декан-2-карбонат



До розчину етил 1-[(4-нітрофеніл)сульфоніл]-8-окса-1-азаспіро[4,5]декан-2-карбонату (165) (1,47 г, 3,7 ммол) у безводному ацетонітрилі (25 мл) додавали калій карбонат (0,76 г, 5,5 ммол), 18-crown-6 (0,2 г, 0,7 ммол) та тіофенол (0,6 мл, 5,5 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 18 год. Реакцію концентрували у вакуумі та залишок розчиняли в 0,1 N HCl. Водний шар екстрагували двічі EtOAc, та органічний шар відкидали. Водний шар обробляли твердим калій карбонатом до блакитної фарбування pH-паперу. Це екстрагували 15% ізопропанолом/дихлорметаном (3 X), та органічний шар сушили над натрій сульфатом і концентрували у вакуумі, що дало заголовну сполуку як прозору олію (0,71 г, 90% вихід).

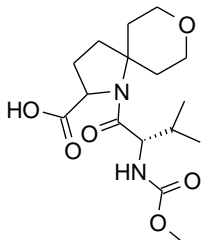
Інтермедіат 167: етил 1-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-8-окса-1-азаспіро[4,5]декан-2-карбонат



До розчину етил 8-окса-1-азаспіро[4,5]декан-2-карбонату (166) (125 мг, 0,59 ммол) у

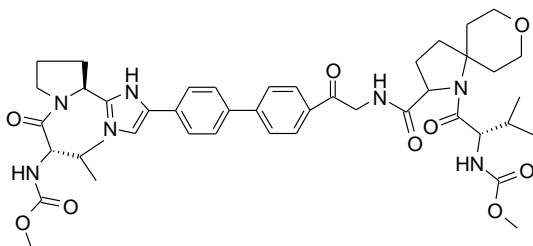
безводному дихлорметані (2 мл) додавали аргентум ціанід (98 мг, 0,73 ммол), а потім – N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл хлорид (142 мг, 0,73 ммол) як розчин у безводному дихлорметані (3,5 мл), та розчин перемішували при кімнатній температурі протягом 18 год. під азотом. Реакцію фільтрували та обробляли метанолом і перемішували протягом 5 хвил. Реакцію концентрували у вакуумі та залишок очищували хроматографією на силікагелі, елюючи 30-100% гексанами/EtOAc, що дало заголовну сполуку як білу тверду речовину (43 мг, 20% вихід).

Інтермедіат 168: 1-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-8-окса-1-азаспіро[4,5]декан-2-карбонова кислота



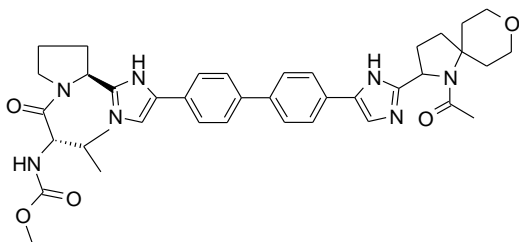
До розчину етил 1-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-8-окса-1-азаспіро[4,5]декан-2-карбонату (167) (80 мг, 0,2 ммол) у ТГФ/воді/метанолі (1,0 мл/0,5 мл/0,5 мл) додавали літій гідроксид моногідрат (13 мг, 0,3 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 72 год. Реакцію обробляли 1N HCl (0,5 мл), та реакцію розподіляли між EtOAc та 0,1 N HCl. Органічний шар відокремлювали та сушили над MgSO₄ та концентрували у вакуумі, що дало заголовну сполуку як білу тверду речовину (53 мг, 72% вихід). ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн⁻¹ 12,88 (br. s., 1 H) 7,45 - 7,61 (m, 1 H) 4,89 - 5,03 (m, 1 H) 3,70 - 3,87 (m, 2 H) 3,65 (t, J=9,2 Гц, 1 H) 3,53 (s, 3 H) 3,02 (td, J=12,9, 4,9 Гц, 1 H) 2,71 - 2,90 (m, 1 H) 2,22 - 2,38 (m, 1 H) 1,87 - 2,19 (m, 3 H) 1,53 - 1,73 (m, 1 H) 1,32 - 1,42 (m, 1 H) 1,06 - 1,15 (m, 1 H) 0,61 - 0,98 (m, 8 H). PX-МС EPI (M + H)⁺ = 342,95.

Інтермедіат 169: метил((1S)-2-метил-1-[[[(2S)-2-(4-{4'-[[[(1S)-3-метил-2-[[[(метилокси)карбоніл]аміно]бутаноіл]-8-окса-1-азаспіро[4,5]дец-2-іл]карбоніл]аміно]ацетил]-4-біфеніліл]-1H-імідазол-2-іл)-1-піролідиніл]карбоніл]пропіл]карбамат



До розчину 1-{N-[(метилокси)карбоніл]-L-валіл}-8-окса-1-азаспіро[4,5]декан-2-карбонової кислоти (168) (52 мг, 1,5 ммол) та метил {(1S)-1-[[[(2S)-2-{4-{4'-(аміноацетил)-4-біфеніліл]-1H-імідазол-2-іл)-1-піролідиніл]карбоніл]-2-метилпропіл]карбамату дигідрогенхлориду (1) (88 мг, 0,15 ммол) та HATU (58 мг, 0,15 ммол) у безводному дихлорметані (1,2 мл) додавали основу Ханіга (0,12 мл, 0,68 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 1 год. Реакцію концентрували у вакуумі та очищували ВЕРХ, елюючи 10-90% водою/ацетонітрилом/0,2% NH₄OH, що дало заголовну сполуку як не зовсім білу тверду речовину (73 мг, 58% вихід).

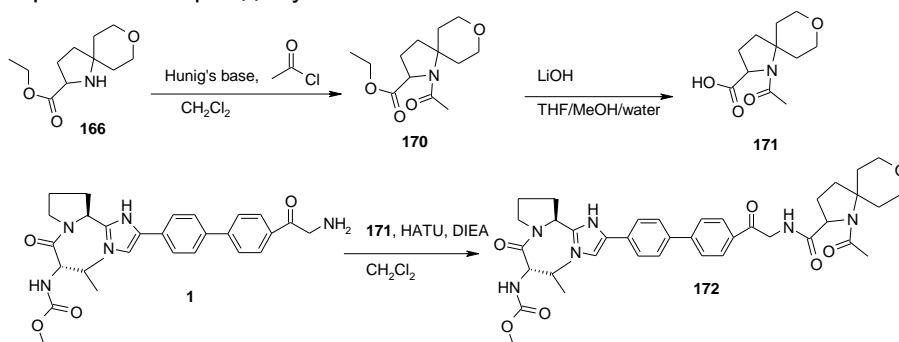
Приклад 31: метил((1S)-1-[[[(2S)-2-(4-{4'-[2-(1-ацетил-8-окса-1-азаспіро[4,5]дец-2-іл)-1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл]-1H-імідазол-2-іл)-1-піролідиніл]карбоніл]-2-метилпропіл]карбамат



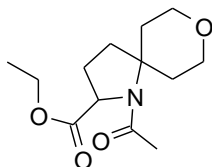
Цю сполуку отримували в умовах як у прикладі 30 із метил {(1S)-1-[[[(2S)-2-{4-{4'-[[[(1-ацетил-8-окса-1-азаспіро[4,5]дец-2-іл]карбоніл]аміно]ацетил]-4-біфеніліл]-1H-імідазол-2-іл)-1-піролідиніл]карбоніл]-2-метилпропіл]карбамату (172) (116 мг, 0,16 ммол), що дало заголовну сполуку як жовто-коричневу тверду речовину (19 мг, 17% вихід). ¹H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-

d_4) δ млн⁻¹ 7,51 - 7,90 (m, 8 H) 7,17 - 7,52 (m, 2 H) 5,08 - 5,26 (m, 2 H) 3,81 - 4,03 (m, 4 H) 3,64 (s, 3 H) 3,41 - 3,61 (m, 3 H) 2,21 - 2,51 (m, 5 H) 2,01 - 2,21 (m, 4 H) 1,97 (d, J=19,9 Гц, 5 H) 1,77 - 1,91 (m, 1 H) 1,64 - 1,75 (m, 1 H) 1,31 - 1,42 (m, 1 H) 0,79 - 1,04 (m, 8 H). ВРМС для C₃₉H₄₈N₇O₅ (M + H)⁺ розраховано: 694,3717, знайдено: 694,3718. Чистота (PX-МС): 79%.

5 Отримання інтермедиату 172

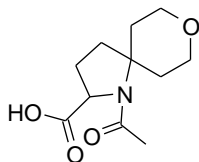


Інтермедіат 170: етил 1-ацетил-8-окса-1-азаспіро[4,5]декан-2-карбонат

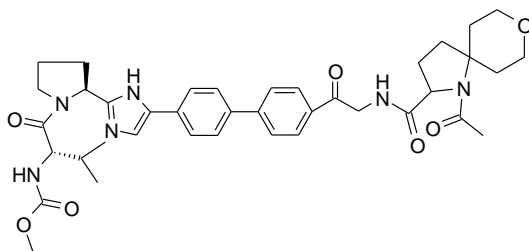


- 10 До розчину етил 8-окса-1-азаспіро[4,5]декан-2-карбонату (166) (135 мг, 0,63 ммол) у безводному дихлорметані (2 мл) додавали основу Ханіга (0,22 мл, 1,3 ммол), а потім – ацетилхлорид (0,05 мл, 0,76 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі під азотом протягом 1,5 год. Реакцію розбавляли дихлорметаном та промивали 0,1 N HCl, та органічний шар сушили над MgSO₄ і концентрували у вакуумі. Залишок очищували
- 15 хроматографією на силікагелі, елюючи 60-100% гексанами/EtOAc, що дало заголовну сполуку як жовту олію (94 мг, 58% вихід).

Інтермедіат 171: 1-ацетил-8-окса-1-азаспіро[4,5]декан-2-карбонова кислота



- 20 До розчину етил 1-ацетил-8-окса-1-азаспіро[4,5]декан-2-карбонату (170) (93 мг, 0,34 ммол) у ТГФ/води/метанолі (1,1 мл/0,6 мл/ 0,6 мл) додавали літій гідроксид моногідрат (29 мг, 0,69 ммол), та реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 3 год. Реакцію обробляли 1N HCl (0,7 мл) та розподіляли між EtOAc та 0,1 N HCl, водний шар двічі екстрагували EtOAc, комбіновані органічні шари сушили над MgSO₄ та концентрували у вакуумі, що дало заголовну сполуку як білу тверду речовину (79 мг, 95% вихід).
- 25 Інтермедіат 172: метил {(1S)-1-[[[(2S)-2-{4-[4'-{[(1-ацетил-8-окса-1-азаспіро[4,5]декан-2-іл)карбоніл]аміно}ацетил]-4-біфеніліл]-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл]-2-метилпропіл}карбамат

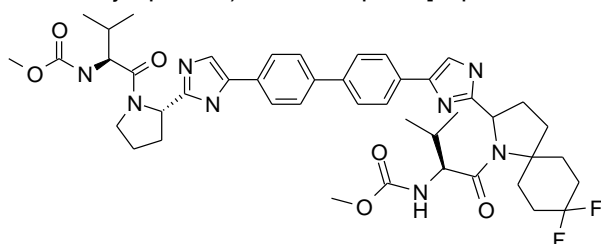


- 30 Цю сполуку отримували способом аналогічним отриманню інтермедиату 169 з 1-ацетил-8-окса-1-азаспіро[4,5]декан-2-карбонової кислоти (171) (56 мг, 0,25 ммол) та метил {(1S)-1-[[[(2S)-2-{4-[4'-{[(1-ацетил-8-окса-1-азаспіро[4,5]декан-2-іл)карбоніл]аміно}ацетил]-4-біфеніліл]-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл]-2-метилпропіл}карбамату дигідрогенхлориду (1) (142 мг, 0,25 ммол), що дало заголовну сполуку

як не зовсім білу тверду речовину (118 мг, 67% вихід).

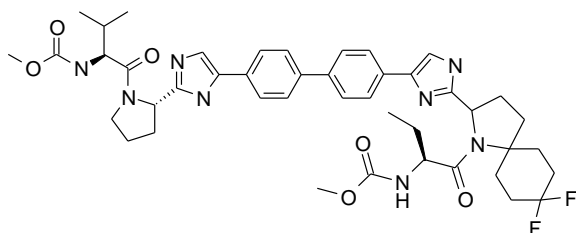
Приклади 32 – 37 отримували, застосовуючи синтетичну послідовність як у прикладах 30 та 31.

Приклад 32: метил[(1S)-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[8,8-дифлуоро-1-((2S)-3-метил-2-((метилокси) карбоніл)аміно)бутаноіл)-1-азаспіро[4,5]дец-2-іл]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл)карбоніл)-2-метилпропіл]карбамат



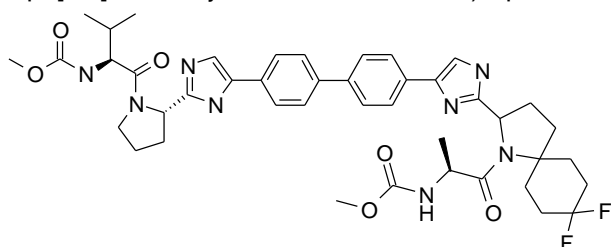
^1H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ- d_4) δ 7,92 - 7,51 (m, 8 H), 7,29 (br. s., 2 H), 5,71 (br. s., 1 H), 5,32 (br. s., 1 H), 4,21 (d, J = 7,4 Гц, 1 H), 4,15 - 3,80 (m, 4 H), 3,77 - 3,41 (m, 8 H), 3,18 (br. s., 1 H), 3,12 - 2,82 (m, 1 H), 2,63 - 1,40 (m, 16 H), 1,05 - 0,84 (m, 10 H), 0,78 - 0,64 (m, 1 H), 0,44 - 0,28 (m, 1 H). ВРМС для $\text{C}_{45}\text{H}_{57}\text{F}_2\text{N}_8\text{O}_6$ ($M + H$) $^+$ розраховано: 843,4369, знайдено: 843,4368.

Приклад 33: метил[(1S)-1-((8,8-дифлуоро-2-[4-(4'-{2-[(2S)-1-((2S)-3-метил-2-((метилокси)карбоніл)аміно)бутаноіл)-2-піролідиніл]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-азаспіро[4,5]дец-1-іл)карбоніл)пропіл]карбамат



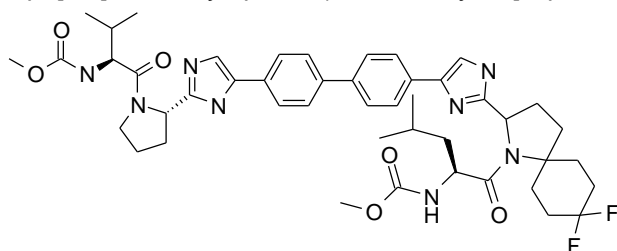
^1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ- d) δ 7,84 (d, J = 7,8 Гц, 3 H), 7,72 - 7,41 (m, 6 H), 7,31 - 7,09 (m, 3 H), 5,73 - 5,17 (m, 4 H), 5,12 (br. s., 1 H), 4,41 - 4,06 (m, 3 H), 3,97 - 3,56 (m, 11 H), 3,37 - 2,76 (m, 4 H), 2,60 - 1,55 (m, 9 H), 1,46 - 1,20 (m, 2 H), 1,06 (d, J = 6,0 Гц, 2 H), 1,00 - 0,79 (m, 5 H), 0,56 (d, J = 7,3 Гц, 1 H). ВРМС для $\text{C}_{44}\text{H}_{55}\text{F}_2\text{N}_8\text{O}_6$ ($M + H$) $^+$ розраховано: 829,4213, знайдено: 829,4211.

Приклад 34: метил((1S)-2-{8,8-дифлуоро-2-[4-(4'-{2-[(2S)-1-((2S)-3-метил-2-((метилокси)карбоніл)аміно)бутаноіл)-2-піролідиніл]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-азаспіро[4,5]дец-1-іл)-1-метил-2-оксоетил)карбамат



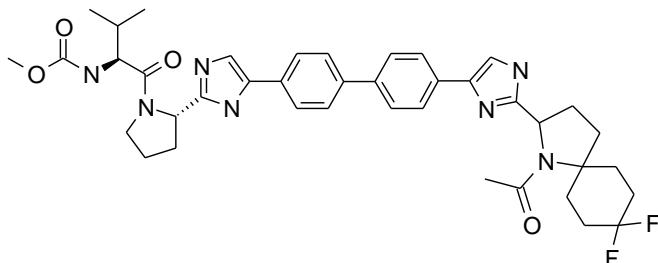
^1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ- d) δ 10,97 - 10,14 (m, 2 H), 7,91 - 7,40 (m, 8 H), 7,34 - 7,16 (m, 2 H), 5,68 - 5,15 (m, 3 H), 5,08 (d, J = 6,0 Гц, 1 H), 4,34 (d, J = 8,0 Гц, 2 H), 3,95 - 3,54 (m, 8 H), 3,37 - 2,69 (m, 4 H), 2,60 - 1,57 (m, 13 H), 1,56 - 1,18 (m, 3 H), 1,06 (d, J = 6,8 Гц, 1 H), 0,89 (d, J = 6,5 Гц, 6 H). ВРМС для $\text{C}_{43}\text{H}_{53}\text{F}_2\text{N}_8\text{O}_6$ ($M + H$) $^+$ розраховано: 815,4056, знайдено: 815,4061.

Приклад 35: метил[(1S)-1-((8,8-дифлуоро-2-[4-(4'-{2-[(2S)-1-((2S)-3-метил-2-((метилокси)карбоніл)аміно)бутаноіл)-2-піролідиніл]-1H-імідазол-4-іл)-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-азаспіро[4,5]дец-1-іл)карбоніл)-3-метилбутил]карбамат



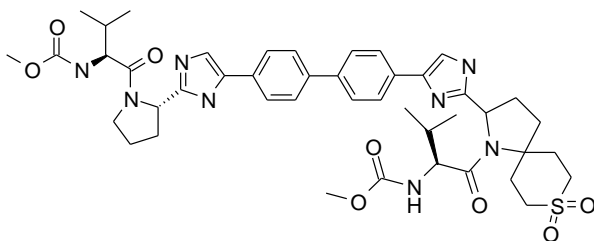
^1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ 11,07 - 9,94 (m, 2 H), 8,17 - 7,42 (m, 10 H), 7,33 - 7,08 (m, 2 H), 5,72 - 5,19 (m, 3 H), 5,14 - 4,99 (m, 1 H), 4,86 (br. s., 1 H), 4,50 - 4,09 (m, 2 H), 4,02 - 3,50 (m, 8 H), 3,45 (s, 1 H), 3,33 - 2,71 (m, 4 H), 2,59 - 1,47 (m, 11 H), 1,40 (br. s., 3 H), 1,19 - 0,67 (m, 11 H), 0,63 - 0,40 (m, 1 H).). ВРМС для $\text{C}_{46}\text{H}_{59}\text{F}_2\text{N}_8\text{O}_6$ ($\text{M} + \text{H}$) $^+$ розраховано: 857,4526, знайдено: 857,4531.

Приклад 36: метил((1S)-1-(((2S)-2-(4-(4'-[2-(1-ацетил-8,8-дифлуоро-1-азаспіро[4,5]дец-2-іл)-1Н-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-1Н-імідазол-2-іл)-1-піролідиніл)карбоніл)-2-метилпропіл)карбамат



^1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ 11,17 - 10,07 (m, 2 H), 8,16 - 7,40 (m, 10 H), 7,35 - 7,03 (m, 2 H), 5,85 - 4,98 (m, 2 H), 4,59 - 4,12 (m, 1 H), 3,72 (s, 5 H), 3,46 (br. s., 1 H), 3,33 - 2,72 (m, 2 H), 2,76 - 1,39 (m, 17 H), 1,27 - 0,74 (m, 5 H). ВРМС для $\text{C}_{40}\text{H}_{48}\text{F}_2\text{N}_7\text{O}_4$ ($\text{M} + \text{H}$) $^+$ розраховано: 728,3736, знайдено: 728,3736.

Приклад 37: метил[(1S)-2-метил-1-(((2S)-2-[4-(4'-[2-[1-((2S)-3-метил-2-((метилокси)карбоніл)аміно)бутаноіл)-8,8-діоксидо-8-тіа-1-азаспіро[4,5]дец-2-іл]-1Н-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-1Н-імідазол-2-іл)-1-піролідиніл)карбоніл)пропіл)карбамат



^1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ 7,92 - 7,52 (m, 9 H), 5,39 (br. s., 4 H), 4,36 (br. s., 1 H), 3,98 - 3,82 (m, 1 H), 3,82 - 3,60 (m, 10 H), 3,19 (br. s., 4 H), 2,88 - 2,70 (m, 1 H), 2,33 (br. s., 4 H), 2,02 (s, 4 H), 1,81 (br. s., 5 H), 1,06 (s, 1 H), 0,89 (d, J = 7,0 Гц, 6 H), 0,74 (d, J = 6,5 Гц, 3 H), 0,44 - 0,34 (m, 3 H). ВРМС для $\text{C}_{44}\text{H}_{57}\text{N}_8\text{O}_8\text{S}$ ($\text{M} + \text{H}$) $^+$ розраховано: 857,4020, знайдено: 857,4018.

Протокол тестування та дані аналізу сполук у кількісній оцінці реплікону HCV

Аналізували активність сполук проти HCV, застосовуючи системи моделей підгеномного реплікону генотипу 1a та 1b. Стабільні клітинні лінії, які несуть реплікони генотипу 1a та 1b, застосовували для скринінгу сполук. Обидва реплікони є біцистронними та містять ген люциферази світлячка. Клітинна лінія ET є стабільно трансфектованою транскриптіями РНК, які накопичують реплікон I₃₈₉luc-ubi-neo/NS3-3'/ET із білку злиття люцифераза-убіквітин-нерміцин фосфотрансферази світлячку та EMCV-IRES, стимульоване поліпротеїном NS3-5B, який містить культуру клітини адаптивних мутацій (E1202G; T1280I; K1846T) (Krieger et al, 2001 та неопубліковане). Реплікон генотипу – стабільна клітинна лінія, ліцензована Apath LLC, модифікована до вмісту гену люциферази світлячку. Клітини вирощували у DMEM, доповненому наступним: 10% фетальна теляча сироватка, 2 мМ глутамін, пеніцилін (100 Од.ім./мл)/стрептоміцин (100 мкг/мл), 1х заміни амінокислоти, та 250-500 мкг/мл G418 ("Генетицин"). Вони всі доступні від Life Technologies (Bethesda, Md.). Клітини розміщували при 5×10^3 клітини/лунку в 384-лункові планшети, які містять сполуки. Кінцева концентрація сполук була в діапазоні 0,03 пкМ – 50 мкМ та кінцева концентрація ДМСО була 0,5-1%.

Активність люциферази вимірювали після 48 год. додаванням реагенту Steady glo reagent (Promega, Madison, Wis.). Дані проценту інгібування реплікації наносили на графік стосовно сполуки контролю. У тих самих умовах визначали цитотоксичність сполук, застосовуючи клітину titer glo (Promega, Madison, Wis.). EC₅₀ визначали із кривої відгуку 11-точкової дози, застосовуючи 3-4-кратне послідовне розведення для кожної сполуки, яке охоплювало діапазон концентрацій > 1000-кратного. Рівень інгібування для кожної сполуки визначали на основі логарифму активності або біопробі плюс модуль Excel XC50. Процент інгібування визначали з наступного рівняння, де величина з урахуванням перехресної завади є величиною з лунки тесту, величина з урахуванням перехресної завади дорівнює середній величині лунок без сполуки, та середнє негативного контролю ДМСО дорівнює середній величині лунок із ДМСО

але без клітин.

$$\frac{100 \cdot (1 - (\text{величина з урахуванням перехресної завади} - \text{величина з урахуванням перехресної завади}))}{\text{Середнє негативного контролю ДМСО} - \text{Середнє позитивного контролю сполуки}}$$

- 5 Ці приведені величини перенесено до EC_{50} , де їх нанесено на графік відносно молярних концентрацій сполуки, застосовуючи еталонне чотирьохпараметрове логістичне рівняння:

$$y = A + \frac{B - A}{1 + [\frac{10^x}{10^c}]^D}$$

Де:

- 10 A = мінімальний y D= фактор ухилу
B = максимальний y x = \log_{10} концентрації сполуки [M]
C = $\log_{10} EC_{50}$ p $EC_{50} = -C$

Як показано нижче, знайдено, що всі тестовані сполуки, за винятком, наприклад 20, інгібують активність реплікону з p $EC_{50} > 5$.

15

| | Replicon 1A p EC_{50} | Replicon 1B p EC_{50} |
|------------|----------------------------|----------------------------|
| Example 1 | 8.8 | 11.0 |
| Example 2 | 10.4 | 11.1 |
| Example 3 | 7.6 | 10.8 |
| Example 4 | 10.4 | 11.0 |
| Example 5 | 10.1 | 10.7 |
| Example 6 | 10.6 | 11.1 |
| Example 7 | 9.1 | 11.6 |
| Example 8 | 10.5 | 11.1 |
| Example 9 | 10.5 | 11.2 |
| Example 10 | 8.7 | 11.0 |
| Example 11 | 8.9 | 11.0 |
| Example 12 | 10.1 | 11.4 |
| Example 13 | 10.2 | 11.4 |
| Example 14 | 9.2 | 11.3 |

| | | |
|------------|------|------|
| Example 15 | 10 2 | 10 8 |
| Example 16 | 9 4 | 10 4 |
| Example 17 | 10 4 | 11 6 |
| Example 18 | 10 7 | 10 9 |
| Example 19 | 8 0 | 10 4 |
| Example 20 | <7 5 | 8 8 |
| Example 21 | 8 0 | 9 7 |
| Example 22 | 9 1 | 10 8 |
| Example 23 | 8 9 | 11 0 |
| Example 24 | 8 5 | 9 9 |
| Example 25 | 8 9 | 9 8 |
| Example 26 | 8 7 | 10 3 |
| Example 27 | 8 2 | 9 6 |
| Example 28 | 8 8 | 10 3 |
| Example 29 | 10 0 | 11 5 |
| Example 30 | 8 8 | 10 2 |
| Example 31 | 9 5 | 10 9 |
| Example 32 | 8 8 | 10 8 |
| Example 33 | 9 0 | 10 8 |
| Example 34 | 9 2 | 11 0 |
| Example 35 | 8 7 | 10 9 |
| Example 36 | 7 6 | 10 0 |
| Example 37 | 7 9 | 9 5 |

Отримання кристалічних солей сполуки прикладу 2: метил[(1S)-2-метил-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-
 5 [(8S)-7-((2S)-3-метил-2-[[метилокси]карбоніл]аміно]бутаноіл)-1,4-діокса-7-азаспіро[4,4]нон-8-іл]-
 1H-імідазол-4-іл]-4-біфеніліл)-1H-імідазол-2-іл]-1-піролідиніл]карбоніл)пропіл]карбамату.

Кристалічна ді-HCl-сіль сполуки прикладу 2:

У WO 2009/020828 розкрито кристалічну ді-HCl-сіль сполуки, яку вважають корисною для
 лікування від інфекції HCV. Заголовну сполуку в WO 2009/020828 отримували як описано в
 цьому патенті.

10 Сполуку прикладу 2 виділяли та очищували як аморфну вільну основу. Цю аморфну вільну
 основу розчиняли в ацетоні (3,6 мл; 30 об.) при кімнатній температурі з перемішуванням.
 Додавали хлоридну кислоту (316 мкл 1,0 М у діоксані; 2,1 еквіваленти), що призводило до
 утворення аморфного осаду. Метанол (480 мкл; 4 об.) додавали в аліквотах до розчинення
 15 твердого. Додавали кристалічні затравки ді-HCl-сполуки з WO 2009/020828, та суміш
 перемішували протягом суботи та неділі. Продукт фільтрували без промивання, вихід
 дорівнював 62,6% (84,0 мг; 0,0946 ммол) кристалічної ді-HCl-солі сполуки прикладу 2.

Кристалічна ді-HCl-сіль сполуки прикладу 2:

20 Сполуку прикладу 2 виділяли та очищували як аморфну вільну основу. Цю аморфну вільну
 основу (555 мг; 0,696 ммол) розчиняли в ацетоні (8,3 мл; 15 об.) та метанолі (2,2 мл; 4 об.) при
 50°C із перемішуванням. Повільно додавали хлоридну кислоту (1,46 мл 1,0 М у діоксані; 2,1
 еквіваленти), а потім – кристалічні затравки ді-HCl-солі сполуки прикладу 2. Кашку тримали при
 50°C протягом одної години, охолоджували до кімнатної температури, та перемішували
 протягом суботи та неділі. Продукт швидко фільтрували без промивання та сушили при 50°C у
 вакуумній печі при продуванні азоту. Вихід дорівнював 54,0% (327 мг; 0,376 ммол) кристалічної
 25 ді-HCl-солі сполуки прикладу 2.

Кристалічний сульфат сполуки прикладу 2:

Аморфний сульфат сполуки прикладу 2 отримували додаванням 1,0 екв. сульфатної
 кислоти до розчину вільної основи та концентруванням до сухого стану. Аморфний сульфат
 (приблизно 50 мг; 0,056 ммол) брали в ацетоні (750 мкл; 15 об'ємів), та суміш нагрівали до 50°C.
 30 Додавали метанол (210 мкл; 4,2 об.) 10 мкл до повного розчинення майже всіх твердих,
 отримували мутний розчин. Цей мутний розчин перемішували при 50°C протягом 16 год., потім

охолоджували до 23°C. Продукт фільтрували, аналізували, та визначали відповідність щодо кристалічному сульфату сполуки прикладу 2.

Кристалічний сульфат сполуки прикладу 2:

Аморфну вільну основу сполуки прикладу 2 (250 мг; 0,314 ммол) перемішували з метанолом (1,25 мл; 5 об.) та нагрівали до 50°C із перемішуванням для прискорення розчинення. Повільно додавали сульфатну кислоту (0,105 мл 3,0 М у воді; 1,0 еквівалент), а потім – кристалічні затравки сульфату сполуки прикладу 2. Кашку тримали при 50°C протягом трьох годин до створення помірно густої жовтої кашки. Температуру знижували до 15°C для підвищення виходу. Продукт фільтрували без промивання та сушили при 50°C у вакуумній печі при продуванні азоту. Вихід кристалічного сульфату GSK2336805 дорівнював 73,6% (211 мг; 0,231 ммол).

Аналіз кристалічних солей:

Кристалічні солі ді-НCl та сульфат сполуки прикладу 2 аналізували іонною хроматографією, рентгенівською дифракцією на порошок (PXRD), раманівською спектроскопією, ДСК, та ТГА. Усі аналізи сумісні із кристалічними солями.

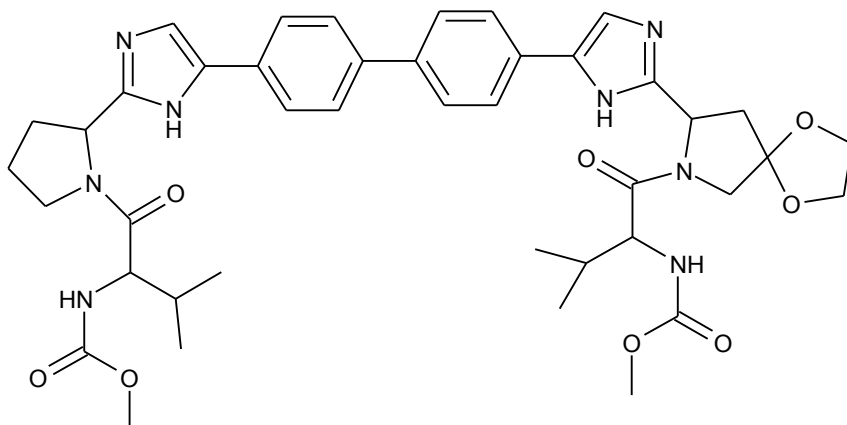
Рентгенівську дифракцію на порошок робили на PANalytical X'Pert-Pro MPD із монохроматором Johansson K α 1, застосовуючи детектор X'Celerator. Головні робочі параметри були наступними: радіаційне випромінювання: Cu (K α 1), 1,54060 ангстремів (монохроматичне); детектор: X'Celerator; напруга: 45 кВ; потік: 40 мА; початковий кут: 2,0° \pm 2 θ ; кінцевий кут: 50,0° \pm 2 θ ; величина кроку: 0,02°; час/крок: 40,0 сек.; швидкість сканування: 0,05°/сек.; падаючий промінь: 2° фіксована щілина проти розсіювання та програмована дивергентна щілина; дифрагований промінь: щілина солера 0,02 рад, та програмована щілина проти розсіювання. Зразки готували на силіконовому тримачеві зразку з нульовим фоном.

Ді-НCl-сіль сполуки прикладу 2 мала значні піки в рентгенівській дифрактограмі на порошок при величинах двох тета в градусах та d-інтервалу в ангстремах у дужках 5,3(16,55), 9,9 (8,94), 10,4 (8,54), 13,3(6,65), 18,9(4,70), 20,3(4,37), 21,2(4,18), 22,5(3,95), 23,2(3,84), 23,7(3,75), 24,4(3,65), 26,3(3,39), 27,6(3,23). Крива ТГА ді-НCl-солі сполуки прикладу 2 сумісна з безводною формою. Крива ДСК ді-НCl-солі сполуки прикладу 2 показала появу плавлення та/або розкладу, приблизно, при 262°C.

Сульфат сполуки прикладу 2 мав значні піки в рентгенівській дифрактограмі на порошок при величинах двох тета в градусах та d-інтервалу в ангстремах 5,6(15,87), 7,1(12,39), 8,0(11,10), 10,5(8,41), 11,9(7,41), 12,6(7,02), 13,4(6,61), 14,3(6,18), 16,6(5,33), 17,5(5,07), 18,4(4,81), 20,0(4,43), 21,2(4,19), 23,8(3,73). Крива ТГА сульфату сполуки прикладу 2 сумісна зі змінною формою гідрату. Крива ДСК сульфату сполуки прикладу 2 показала появу плавлення та/або розкладу, приблизно, при 241°C.

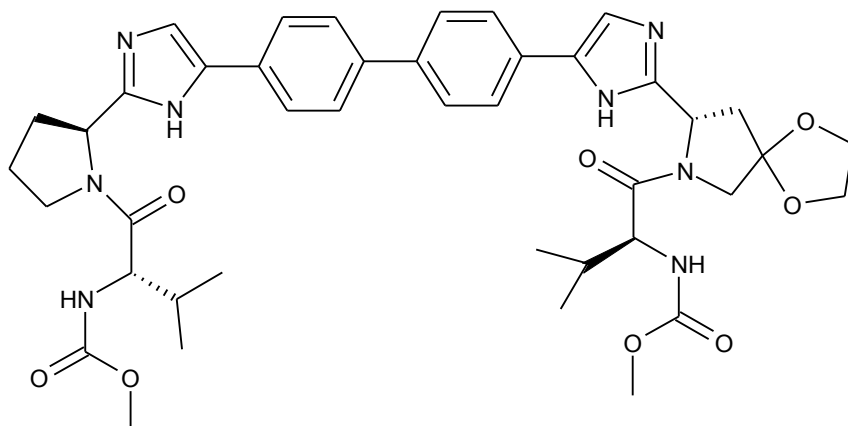
ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Сполука



або її фармацевтично прийнятна сіль, або будь-який її стереоізомер, або їх суміш.

2. Сполука за п. 1, де названа сполука є енантімерно збагаченою наступним енантіомером



3. Фармацевтично прийнятна сіль сполуки за п. 1.
4. Сіль за п. 3, де названа сіль - ди-НСІ-сіль або сульфат.
5. Сіль за п. 4, де названа сіль - сульфат.
- 5 6. Сіль за п. 4, де названа сіль є кристалічною.
7. Фармацевтична композиція, яка містить сполуку або її фармацевтично прийнятну сіль за п. 1.
8. Спосіб лікування вірусної інфекції в людей, за яким застосовують фармацевтичну композицію за п. 7.
9. Спосіб за п. 8, де названа вірусна інфекція є інфекцією HCV.
- 10 10. Фармацевтична композиція для застосування в лікуванні вірусної інфекції в людей, яка містить сполуку або її фармацевтично прийнятну сіль за п. 1.
11. Сполука або її фармацевтично прийнятна сіль за п. 1 для застосування в лікуванні вірусної інфекції в людей.
12. Застосування сполуки або її фармацевтично прийнятної солі за п. 1 у виготовленні
- 15 медикаменту для застосування в лікуванні вірусної інфекції в людей.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601