

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 040570

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.06.24

(21) Номер заявки
202090329

(22) Дата подачи заявки
2018.07.19

(51) Int. Cl. C07K 5/107 (2006.01)
A61K 38/07 (2006.01)
A61P 25/04 (2006.01)

(54) ПЕПТИДНЫЕ АМИДНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ, СПОСОБ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 201710598408.7; 201810014939.1

(32) 2017.07.21; 2018.01.11

(33) CN

(43) 2020.05.25

(86) PCT/CN2018/096271

(87) WO 2019/015644 2019.01.24

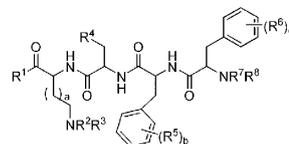
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
СЫЧУАНЬ ХАЙСКО
ФАРМАСЬЮТИКАЛ КО., ЛТД. (CN)

(56) CN-A-101627049
US-A1-2011212882
US-A1-2010075910
CN-A-101535336
CN-A-101454338
CN-A-1283201

(72) Изобретатель:
Чжан Чэнь, Хуан Аньбан, Йе Фей,
Хуан Лунбинь, Хуан Чжэнган, Ван
Цзяньминь, Вэй Юнган, Янь Панкэ,
Чжэн Вэй (CN)

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

(57) В изобретении предложено пептидное амидное соединение, представленное общей формулой (I), способ его получения и его медицинское применение. Соединение имеет новую структуру, обладает улучшенной биологической активностью и улучшенным обезболивающим действием.



(I)

B1

040570

040570

B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к пептидному амидному соединению, обладающему обезболивающим действием, способу его получения и медицинского применения.

Уровень техники

Опиоидные средства применялись для лечения боли в течение тысяч лет и играют физиологическую роль, прежде всего, при связывании с тремя известными классическими опиоидными рецепторами μ , δ и κ . Эти три рецептора являются членами семейства сопряженных с G-белком рецепторов, главным образом присутствующих в центральной нервной системе, а также во многих периферических тканях. Одним из классических лекарственных средств является морфин, который оказывает обезболивающее действие главным образом при воздействии на опиоидные μ -рецепторы.

Кроме того, обычно применяемые клинические анальгетики включают другие лекарственные средства, являющиеся агонистами опиоидных μ -рецепторов, такие как традиционные опиоиды, представленные гидроморфоном и фentanилом.

Однако опиоидные агонисты μ -рецепторов производят множество побочных эффектов при длительном применении, такие как толерантность, зависимость и угнетение дыхания, а также воздействие на моторику желудочно-кишечного тракта, которые не только увеличивают стоимость лечения, но также влияют на курс восстановления пациента после лечения. Некоторые неопиоидные препараты в форме для инъекций, такие как парацетамол и НПВС (нестероидные противовоспалительные средства), имеют ограниченное применение и дозы из-за своего слабого обезболивающего действия. Кроме того, они также обладают некоторыми побочными эффектами, например, ацетаминофен усиливает гепатотоксичность, а НПВС (нестероидные противовоспалительные средства) вызывают различные желудочно-кишечные заболевания.

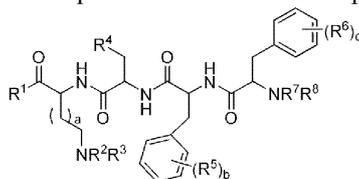
В связи с возрастающими трудностями в жизни и работе в современном обществе и увеличением числа пожилых людей, а также ввиду важной роли опиоидных рецепторов для лечения различных типов боли поиск новых опиоидов с высокой анальгетической активностью и низкими токсическими побочными эффектами имеют важное научное и социальное значение.

В исследованиях было обнаружено, что при использовании агонистов опиоидных κ -рецепторов опиоидные κ -рецепторы могут использоваться в качестве мишеней при вмешательстве с целью лечения боли и предотвращения целого ряда заболеваний и патологических состояний. Например, в 1993 году Woold et al. описали применение агонистов опиоидных κ -рецепторов для лечения болевой сенситизации (Anesthesia and Analgesia, 1993, 77, 362-379); в 1999 году Wu et al. предложили агонисты опиоидных κ -рецепторов в качестве мишеней для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний (Circulation Res. 1999, 84, 1388-1395); в 2003 году Kaushik et al. описали нейропротекторное действие агонистов опиоидных κ -рецепторов (J. Postgraduate Medicine, 2003, 49(1), 90-95); в 2004 году Potter et al. описали применение агонистов опиоидных κ -рецепторов при нарушениях зрения и боли в глазах (Pharmacol. Exp. Ther. 2004, 209, 548-553); в 2005 году Wikstrom et al. описали применение κ -агонистов при лечении уремии и вызванного опиумом зуда (J. Am. Soc. Nephrol. 2005, 16, 3742-3747); в 2006 году Bileviciute-Ljungar et al. оценили свойства агонистов опиоидных κ -рецепторов при воспалительных заболеваниях, таких как остеоартрит и ревматоидный артрит (Rheumatology, 2006, 45, 295-302); в 2006 году Lembo провел оценку использования агонистов опиоидных κ -рецепторов при желудочно-кишечных заболеваниях (Diges. Dis. 2006, 24, 91-98); в 2006 году Jolivalt et al. описали роль агониста опиоидного κ -рецептора ацимадрина при диабетической нейропатии у грызунов (Diabetologia 2006, 49 (11), 2775-2785); в 2008 году Scheingart, Claudio, D. et al. из Cara Therapeutics Co., Ltd. в WO 2008/057608A2 описали влияние агонистов опиоидных κ -рецепторов на висцеральную боль, боль, связанную с активацией pH-чувствительных ноцицепторов, и капсаицин-индуцированную боль в глазах.

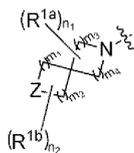
Сущность изобретения

Цель настоящего изобретения состоит в предоставлении агониста опиоидного κ -рецептора, который имеет новую структуру, обладает улучшенной биологической активностью и улучшенным обезболивающим действием, а также способа его получения и медицинского применения.

В настоящем изобретении предложено соединение общей формулы (I) или его стереоизомер, гидрат, метаболит, сольват, фармацевтически приемлемая соль или сокристалл:



(I)



где R^1 выбран из $(R^{1a})_{n_1}$;

каждый из m_1 и m_2 независимо выбран из 1, 2, 3 или 4;

каждый из m_3 и m_4 независимо выбран из 0, 1, 2, 3 или 4 при условии, что m_3 и m_4 не могут быть 0 одновременно;

каждый из n_1 и n_2 независимо выбран из 0, 1, 2, 3 или 4;

Z выбран из $CR^{z1}R^{z2}$ или NR^{z3} ;

каждый из R^{z1} и R^{z2} независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, CF_3 , нитро, C_{1-6} алкильной, C_{1-6} алкокси, C_{2-6} алкенильной, C_{2-6} алкинильной, $-C(=O)-C_{1-6}$ алкильной, $-(CH_2)_q-C(=O)O-C_{1-6}$ алкильной, $-(CH_2)_q-NR^{1e}R^{1f}$, $-(CH_2)_q-COOH$, $-(CH_2)_q-CONH_2$, C_{3-8} карбоциклической группы или 3-8-членной гетероциклической группы, алкильная, алкокси, алкенильная, алкинильная, карбоциклическая или гетероциклическая группа необязательно дополнительно замещена 0-5 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CF_3 , =O, карбоксильной, нитро, циано, amino, C_{1-6} алкил, C_{1-6} алкокси, C_{2-6} алкенильной, C_{2-6} алкинильной, C_{3-8} карбоциклической группы или 3-8-членной гетероциклической группы,; гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, необязательно выбранных из N, O или S, и, когда гетероатом выбран из S, он необязательно находится в форме S, S=O или $S(=O)_2$;

каждый из R^{1e} , R^{1f} независимо выбран из H, C_{1-6} алкильной, $-C(=O)O-C_{1-6}$ алкильной, $-C(=O)O-(CH_2)_q-C_{3-8}$ карбоциклической группы или $-C(=O)O-(CH_2)_q-3-8$ -членной гетероциклической группы;

алкильная, карбоциклическая или гетероциклическая группа необязательно дополнительно замещена 0-5 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CF_3 циано, нитро, C_{1-6} алкильной, C_{1-6} алкокси, C_{2-6} алкенильной, C_{2-6} алкинильной, C_{3-8} карбоциклической группы или 3-8-членной гетероциклической группы, гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, выбранных из N, O или S;

в альтернативе R^{z1} и R^{z2} образуют 3-10-членное азотсодержащее гетероциклическое кольцо с атомом углерода, к которому они присоединены, кольцо необязательно дополнительно замещено заместителем(ями), выбранным из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CF_3 циано, нитро, =O, C_{1-6} алкильной, C_{1-6} алкокси, C_{2-6} алкенильной, C_{2-6} алкинильной, C_{3-8} карбоциклической группы или 3-8-членной гетероциклической группы;

каждый из R^{1a} , R^{1b} независимо выбран из F, CF_3 , C_{1-6} алкильной, C_{2-6} алкенильной, C_{2-6} алкинильной или 3-8-членной гетероциклической группы, алкильная, алкенильная, алкинильная или гетероциклическая группа необязательно дополнительно замещена 0-5 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CF_3 , нитро, циано, C_{1-6} алкильной, C_{1-6} алкокси, C_{2-6} алкенильной, C_{2-6} алкинильной, C_{3-8} карбоциклической группы или 3-8-членной гетероциклической группы, гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, необязательно выбранных из N, O или S;

R^{z3} независимо выбран из H, $-C(=O)-C_{1-6}$ алкильной, $-C(=O)O-C_{1-6}$ алкильной, $-C(=O)-C_{3-8}$ карбоциклической группы, $-C(=O)O-C_{3-8}$ карбоциклической группы, $-C(=O)O-(3-8-членной гетероциклической группы)$, $-S(=O)_p-C_{1-6}$ алкильной, $-S(=O)_p-C_{3-8}$ карбоциклической группы, $-S(=O)_p-(3-8-членной гетероциклической группы)$, $C(=O)NR^{1g}R^{1h}$, $-S(=O)_p-NR^{1i}R^{1j}$ или 3-8-членной гетероциклической группы, алкильная, карбоциклическая или гетероциклическая группа необязательно дополнительно замещена 0-5 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CF_3 , нитро, циано, amino, C_{1-6} алкильной, C_{1-6} алкокси, C_{2-6} алкенильной, C_{2-6} алкинильной, C_{3-8} карбоциклической группы или 3-8-членной гетероциклической группы, гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, необязательно выбранных из N, O или S;

каждый из R^{1g} , R^{1h} , R^{1i} , R^{1j} независимо выбран из H или C_{1-6} алкила;

в альтернативе R^{1g} , R^{1h} образуют 3-10-членное гетероциклическое кольцо с атомом азота, к которому они присоединены, кольцо необязательно дополнительно замещено заместителем(ями), выбранным из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CF_3 циано, нитро, C_{1-6} алкила, C_{1-6} алкокси, C_{2-6} алкенила, C_{2-6} алкинила или $-S(=O)_p-C_{1-6}$ алкила, гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, выбранных из N, O или S;

q выбран из 0, 1, 2, 3 или 4;

r выбран из 0, 1 или 2;

a выбран из 0, 1, 2 или 3;

R^4 независимо выбран из H, C_{1-6} алкильной, C_{2-6} алкенильной, C_{2-6} алкинильной или $-(CH_2)_q-C_{3-8}$ карбоциклической группы, алкильная, алкенильная, алкинильная или карбоциклическая группа необязательно дополнительно замещена 0-5 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CN, CF_3 , NO_2 , C_{1-6} алкильной, C_{1-6} алкокси, C_{2-6} алкенильной, C_{2-6} алкинильной, C_{3-8} карбоциклической группы или 3-8-членной гетероциклической группы, гетероциклическая группа

содержит 1-3 гетероатома, выбранных из N, O или S;

каждый из R^2 , R^3 , R^7 , R^8 независимо выбран из H, C_{1-6} алкильной, $-C(=O)O-C_{1-4}$ алкильной, $-C(=O)O-(CH_2)_q-C_{3-8}$ карбоциклической группы, $-C(=O)O-(CH_2)_q-3-8$ -членной гетероциклической группы

или , алкильная, карбоциклическая или гетероциклическая группа необязательно дополнительно замещена 0-5 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CF_3 нитро, циано, C_{1-6} алкильной, C_{1-6} алкокси, C_{2-6} алкенильной, C_{2-6} алкинильной, C_{3-8} карбоциклической группы или 3-8-членной гетероциклической группы, гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, необязательно выбранных из N, O или S;

b выбран из 0, 1, 2, 3, 4 или 5;

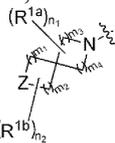
c выбран из 0, 1, 2, 3, 4 или 5;

каждый из R^5 , R^6 независимо выбран из F, Cl, Br, I, CF_3 , циано, нитро, C_{1-4} алкила, $-OR^{5a}$, $-C(O)OR^{5b}$, $-SR^{5c}$, $-S(O)R^{5d}$, $-S(O)_2R^{5e}$ или $-NR^{5f}R^{5g}$.

каждый из R^{5a} , R^{5b} , R^{5c} , R^{5d} , R^{5e} , R^{5f} и R^{5g} независимо выбран из H или C_{1-4} алкила;

в альтернативе R^{5f} , R^{5g} образуют 5-6-членное гетероциклическое кольцо с атомом азота, к которому они присоединены, гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, необязательно выбранных из N, O или S.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения соединение общей формулы (I) или его стереоизомер, гидрат, метаболит, сольват, фармацевтически приемлемая соль или сокристалл, где



R^1 выбран из $(R^{1a})_{n_1}$;

каждый из m_1 , m_2 , m_3 , m_4 независимо выбран из 1 или 2;

каждый из p_1 , p_2 независимо выбран из 0, 1 или 2;

Z выбран из $CR^{z1}R^{z2}$ или NR^{z3} ;

каждый из R^{z1} , R^{z2} независимо выбран из H, F, Cl, Br, I, OH, CF_3 нитро, C_{1-4} алкильной, C_{1-4} алкокси, C_{2-4} алкенильной, C_{2-4} алкинильной, $-C(=O)-C_{1-4}$ алкильной, $-(CH_2)_q-C(=O)O-C_{1-4}$ алкильной, $-(CH_2)_q-NR^{1c}R^{1f}$, $-(CH_2)_q-COOH$, $-(CH_2)_q-CONH_2$, C_{3-6} карбоциклической группы или 3-6-членной гетероциклической группы, предпочтительно H, C_{1-4} алкильной, $-(CH_2)_q-C(=O)O-C_{1-4}$ алкильной, $-(CH_2)_q-NR^{1c}R^{1f}$, $-(CH_2)_q-COOH$, $-(CH_2)_q-CONH_2$, C_{3-6} карбоциклической группы или 3-6-членной гетероциклической группы, алкильная, алкокси, алкенильная, алкинильная, карбоциклическая или гетероциклическая группа необязательно дополнительно замещена 0-3 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CF_3 нитро, =O, карбоксильной, циано, амина, C_{1-4} алкильной, C_{1-4} алкокси, C_{2-4} алкенильной, C_{2-4} алкинильной, C_{3-6} карбоциклической группы или 3-6-членной гетероциклической группы, гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, необязательно выбранных из N, O или S, и, когда гетероатом выбран из S, он необязательно находится в форме S, S=O или $S(=O)_2$;

каждый из R^{1c} , R^{1f} независимо выбран из H, C_{1-4} алкильной, $-C(=O)O-C_{1-4}$ алкильной, $-C(=O)O-(CH_2)_q-C_{3-6}$ карбоциклической группы или $-C(=O)O-(CH_2)_q-3-6$ -членной гетероциклической группы, предпочтительно H, C_{1-4} алкильной, $-C(=O)O-C_{1-4}$ алкильной или $-C(=O)O-(CH_2)_q-C_{3-6}$ карбоциклической группы, алкильная, карбоциклическая или гетероциклическая группа необязательно дополнительно замещена 0-3 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CF_3 циано, нитро, C_{1-4} алкильной, C_{1-4} алкокси, C_{2-4} алкенильной, C_{2-4} алкинильной, C_{3-6} карбоциклической группы или 3-6-членной гетероциклической группы, гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, выбранных из N, O или S;

в альтернативе R^{z1} и R^{z2} образуют 3-10-членное азотсодержащее гетероциклическое кольцо, предпочтительно образуют 4-6-членное азотсодержащее гетероциклическое кольцо, с атомом углерода, к которому они присоединены, кольцо необязательно дополнительно замещено заместителем(ями), выбранным из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CF_3 циано, нитро, =O, C_{1-4} алкильной, C_{1-4} алкокси, C_{2-4} алкенильной, C_{2-4} алкинильной, C_{3-6} карбоциклической группы или 3-6-членной гетероциклической группы;

каждый из R^{1a} , R^{1b} независимо выбран из F, CF_3 , C_{1-6} алкильной, C_{2-6} алкенильной, C_{2-6} алкинильной или 3-6-членной гетероциклической группы, предпочтительно F, CF_3 C_{2-4} алкенила или C_{2-4} алкинила, алкильная, алкенильная, алкинильная или гетероциклическая группа необязательно дополнительно замещена 0-3 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CF_3 нитро, циано, C_{1-4} алкильной, C_{1-4} алкокси, C_{2-4} алкенильной, C_{2-4} алкинильной, C_{3-6} карбоциклической группы или 3-6-членной гетероциклической группы, гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, необязательно выбранных из N, O или S;

R^{z3} независимо выбран из H, $-C(=O)-C_{1-4}$ алкильной, $-C(=O)-C_{3-6}$ карбоциклической группы, $-C(=O)O-C_{1-4}$ алкильной, $-C(=O)-C_{3-4}$ карбоциклической группы, $-C(=O)O-C_{3-6}$ карбоциклической группы

или $-C(=O)O$ -(3-6-членной гетероциклической группы), $-S(=O)_p$ - C_{1-4} алкильной, $-S(=O)_p$ - C_{3-6} карбоциклической группы, $-S(=O)_p$ -(3-6-членной гетероциклической группы), $-C(=O)NR^{1g}R^{1h}$, $-S(=O)_p$ - $NR^{1h}R^{1j}$ или 3-6-членной гетероциклической группы, предпочтительно H, $-C(=O)$ - C_{1-4} алкильной, $-C(=O)O$ - C_{1-4} алкильной, $-S(=O)_p$ - C_{1-4} алкильной, $-S(=O)_p$ - C_{3-6} карбоциклической группы, $-C(=O)NR^{1g}R^{1h}$ или 3-6-членной гетероциклической группы, алкильная, алкенильная, алкинильная, карбоциклическая или гетероциклическая группа необязательно дополнительно замещена 0-3 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CF_3 нитро, циано, амино, C_{1-4} алкильной, C_{1-4} алкокси, C_{2-4} алкенильной, C_{2-4} алкинильной, C_{3-6} карбоциклической группы или 3-6-членной гетероциклической группы, гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, необязательно выбранных из N, O или S;

каждый из R^{1g} , R^{1h} , R^{1i} , R^{1j} независимо выбран из H или C_{1-6} алкила, предпочтительно H или C_{1-4} алкила;

в альтернативе R^{1g} , R^{1h} образуют 3-10-членное гетероциклическое кольцо, предпочтительно образуют 4-6-членное гетероциклическое кольцо, с атомом азота, к которому они присоединены, кольцо необязательно дополнительно замещено заместителем(ями), выбранным из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CF_3 циано, нитро, C_{1-4} алкила, C_{1-4} алкокси, C_{2-4} алкенила, C_{2-4} алкинила или $-S(=O)_p$ - C_{1-4} алкила, гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, выбранных из N, O или S;

q выбран из 0, 1, 2, 3 или 4; предпочтительно 0 или 1;

r выбран из 0, 1 или 2; предпочтительно 2;

a выбран из 0, 1, 2 или 3; предпочтительно 3;

R^4 независимо выбран из H, C_{1-4} алкильной, C_{2-4} алкенильной, C_{2-4} алкинильной или $-(CH_2)_q$ - C_{3-6} карбоциклической группы, предпочтительно C_{1-4} алкила, алкильная, алкенильная, алкинильная или карбоциклическая группа необязательно дополнительно замещена 0-3 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CN, CF_3 , NO_2 , C_{1-4} алкильной, C_{1-4} алкокси, C_{2-4} алкенильной, C_{2-4} алкинильной, C_{3-6} карбоциклической группы или 3-6-членной гетероциклической группы, гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, выбранных из N, O или S;

каждый из R^2 , R^3 , R^7 , R^8 независимо выбран из H, C_{1-4} алкильной, $-C(=O)O$ - C_{1-4} алкильной, $-C(=O)O$ -(CH_2) $_q$ - C_{3-6} карбоциклической группы, $-C(=O)O$ -(CH_2) $_q$ -3-6-членной гетероциклической

группы или , предпочтительно H, C_{1-4} алкильной, $-C(=O)O$ - C_{1-4} алкильной, $-C(=O)O$ -(CH_2) $_q$ - C_{3-6} карбоциклической группы, алкильная, карбоциклическая или гетероциклическая группа необязательно дополнительно замещена 0-3 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CF_3 нитро, циано, C_{1-4} алкильной, C_{1-4} алкокси, C_{2-4} алкенильной, C_{2-4} алкинильной, C_{3-6} карбоциклической группы или 3-6-членной гетероциклической группы, гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, необязательно выбранных из N, O или S;

b выбран из 0, 1, 2, 3, 4 или 5, предпочтительно 0 или 1;

c выбран из 0, 1, 2, 3, 4 или 5, предпочтительно 0 или 1;

каждый из R^5 , R^6 независимо выбран из F, Cl, Br, I, CF_3 , циано, нитро, C_{1-4} алкила или $-NR^{5f}R^{5g}$, предпочтительно F, CF_3 или C_{1-4} алкила;

каждый из R^{5f} и R^{5g} независимо выбран из H или C_{1-4} алкила.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения соединение общей формулы (I) или его стереоизомер, гидрат, метаболит, сольват, фармацевтически приемлемая соль или сокристалл, где

каждый из m_1 , m_2 , m_3 , m_4 независимо выбран из 1 или 2;

каждый из n_1 , n_2 независимо выбран из 0, 1 или 2;

Z выбран из $CR^{z1}R^{z2}$ или NR^{z3} ;

каждый из R^{z1} , R^{z2} независимо выбран из H, C_{1-4} алкильной, $-(CH_2)_q$ - $C(=O)O$ - C_{1-4} алкильной, $-(CH_2)_q$ - $NR^{1c}R^{1f}$, $-(CH_2)_q$ -COOH, $-(CH_2)_q$ -CONH $_2$, C_{3-6} карбоциклической группы или 3-6-членной гетероциклической группы, алкильная, карбоциклическая или гетероциклическая группа необязательно дополнительно замещена 0-5 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CF_3 , =O, карбоксильной, нитро, циано, амино, C_{1-4} алкильной, C_{1-4} алкокси, C_{2-4} алкенильной, C_{2-4} алкинильной, C_{3-6} карбоциклической группы или 3-6-членной гетероциклической группы, гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, необязательно выбранных из N, O или S, и, когда гетероатом выбран из S, он необязательно находится в форме S, S=O или S(=O) $_2$;

каждый из R^{1c} , R^{1f} независимо выбран из H, C_{1-4} алкильной, $-C(=O)O$ - C_{1-4} алкильной или $-C(=O)O$ -(CH_2) $_q$ - C_{3-6} карбоциклической группы, алкильная или карбоциклическая группа необязательно дополнительно замещена 0-3 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CF_3 нитро, циано, метила, этила, метокси, этокси, фенила;

в альтернативе R^{z1} и R^{z2} могут образовывать 4-6-членное азотсодержащее гетероциклическое кольцо с атомом углерода, к которому они присоединены, кольцо необязательно дополнительно замещено заместителем =O;

R^{1a} , R^{1b} независимо выбраны из F, CF_3 метила, этила, пропаноила или изопропила;

каждый R^{z3} независимо выбран из H, $-C(=O)$ - C_{1-4} алкильной, $-C(=O)$ - C_{3-6} карбоциклической группы,

$-C(=O)O-C_{1-4}$ алкильной, $-S(=O)_p-C_{1-4}$ алкильной, $-S(=O)_p-C_{3-6}$ карбоциклической группы, $-C(=O)NR^{1g}R^{1h}$, $-S(=O)_p-NR^{1i}R^{1j}$ или 3-6-членной гетероциклической группы, алкильная, карбоциклическая или гетероциклическая группа необязательно дополнительно замещена 0-3 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CF_3 нитро, циано, amino, метила, этила, метокси, этокси, циклопропила или фенила, гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, выбранных из N, O или S;

каждый из R^{1g} , R^{1h} , R^{1i} , R^{1j} независимо выбран из H или C_{1-4} алкила;

в альтернативе R^{1g} , R^{1h} образуют 4-6-членное гетероциклическое кольцо с атомом азота, к которому они присоединены, кольцо необязательно дополнительно замещено заместителем(ями), выбранным из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CF_3 циано, нитро, метила, этила, метокси, этокси или $-S(=O)_p-C_{1-4}$ алкила (предпочтительно $-S(=O)_p$ -метила, предпочтительно $-S(=O)_p$ -этила), гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, выбранных из N, O или S;

p выбран из 2;

q выбран из 0 или 1;

a выбран из 3;

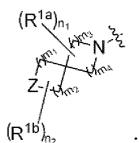
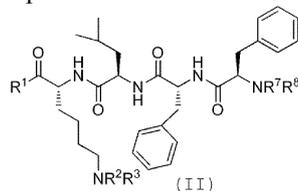
R^4 выбран из пропаноила или изопропила;

каждый из R^2 , R^3 , R^7 , R^8 независимо выбран из H, C_{1-4} алкила, $-C(=O)O-C_{1-4}$ алкила или $-C(=O)O$ -бензила;

b выбран из 0;

c выбран из 0.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения предложено соединение общей формулы (I), где соединение выбрано из соединения общей формулы (II) или его стереоизомера, гидрата, метаболита, сольвата, фармацевтически приемлемой соли или сокристалла:



где R^1 выбран из

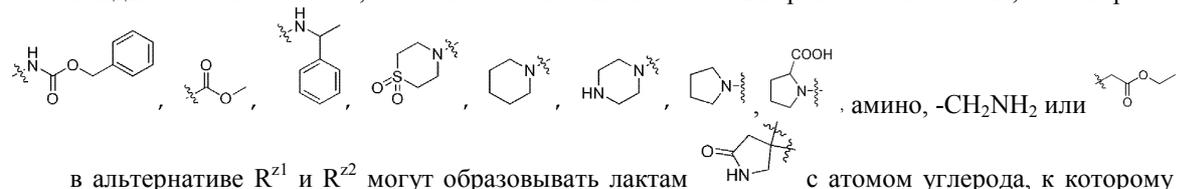
каждый из m_1 , m_2 , m_3 , m_4 независимо выбран из 1 или 2;

каждый из n_1 , n_2 независимо выбран из 0 или 2;

R^{1a} , R^{1b} независимо выбраны из F;

Z выбран из $CR^{z1}R^{z2}$ или NR^{z3} ;

каждый из R^{z1} , R^{z2} независимо выбран из H, карбоксила,



в альтернативе R^{z1} и R^{z2} могут образовывать лактам с атомом углерода, к которому они присоединены;

каждый R^{z3} независимо выбран из H, $-C(=O)-C_{1-4}$ алкильной, $-C(=O)-C_{3-6}$ карбоциклической группы, $-C(=O)O-C_{1-4}$ алкильной, $-S(=O)_p-C_{1-4}$ алкильной, $-S(=O)_p-C_{3-6}$ карбоциклической группы, $-C(=O)NR^{1g}R^{1h}$, $-S(=O)_p-NR^{1i}R^{1j}$ или 3-6-членной гетероциклической группы, алкильная, карбоциклическая или гетероциклическая группа необязательно дополнительно замещена 0-3 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CF_3 нитро, циано, amino, метила, этила, метокси, этокси, циклопропила или фенила, гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, выбранных из N, O или S;

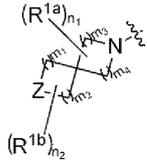
каждый из R^{1g} , R^{1h} , R^{1i} , R^{1j} независимо выбран из H или C_{1-4} алкила;

в альтернативе R^{1g} , R^{1h} образуют 4-6-членное гетероциклическое кольцо с атомом азота, к которому они присоединены, кольцо необязательно дополнительно замещено заместителем(ями), выбранным из группы, состоящей из F, CF_3 метила, метокси или $-S(=O)_p-C_{1-4}$ алкила, гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, выбранных из N, O или S;

p выбран из 2;

каждый из R^2 , R^3 , R^7 , R^8 независимо выбран из H, метила или $-C(=O)O$ -трет-бутил.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения предложено соединение общей формулы (II) или его стереоизомер, гидрат, метаболит, сольват, фармацевтически приемлемая соль или сокристалл, где



R^1 выбран из

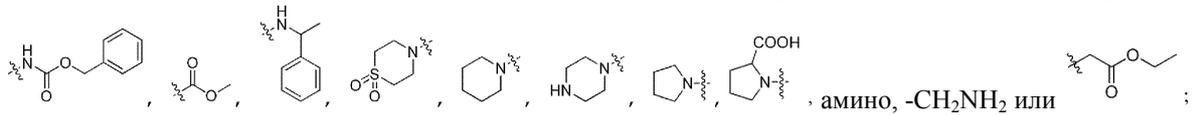
каждый из m_1, m_2, m_3, m_4 независимо выбран из 1 или 2;

каждый из n_1, n_2 независимо выбран из 0 или 2;

R^{1a}, R^{1b} выбраны из F;

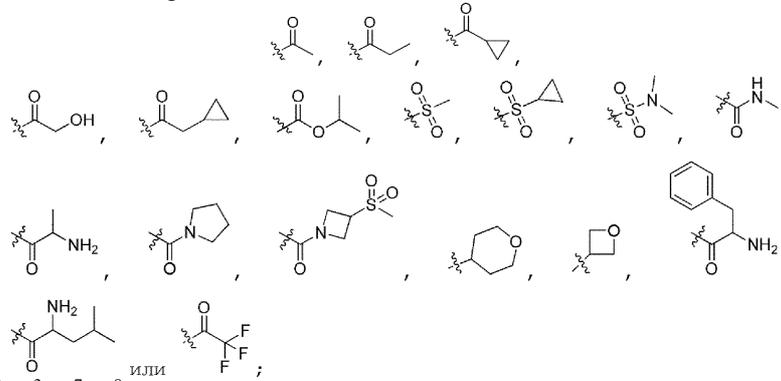
Z выбран из $CR^{z1}R^{z2}$ или NR^{z3} ;

каждый из R^{z1}, R^{z2} независимо выбран из H, карбоксила,



в альтернативе R^{z1} и R^{z2} могут образовывать лактам с атомом углерода, к которому они присоединены;

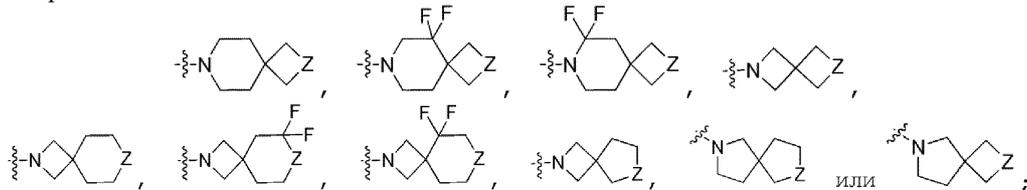
R^{z3} каждый независимо выбран из H,



каждый из R^2, R^3, R^7, R^8 независимо выбран из H, метила или $-C(=O)O$ -трет-бутила.

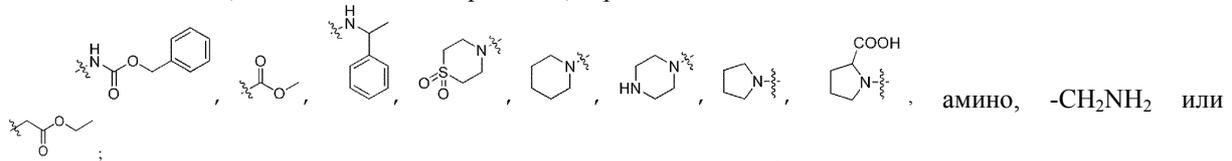
В предпочтительном варианте осуществления изобретения предложено соединение общей формулы (II) или его стереоизомер, гидрат, метаболит, сольват, фармацевтически приемлемая соль или сокристалл, где

R^1 выбран из



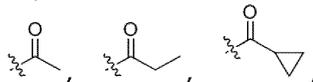
Z выбран из $CR^{z1}R^{z2}$ или NR^{z3} ;

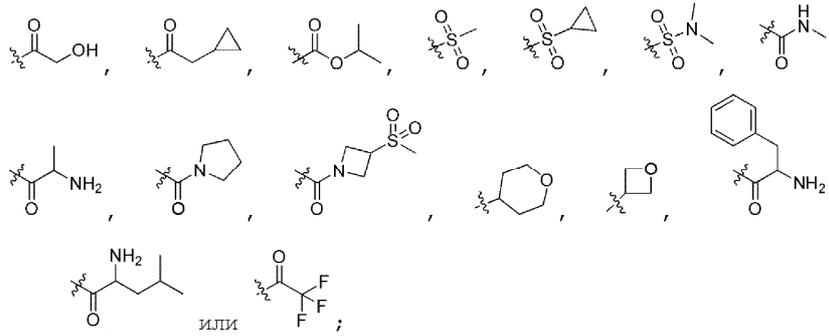
каждый из R^{z1}, R^{z2} независимо выбран из H, карбоксила



в альтернативе R^{z1} и R^{z2} могут образовывать лактам с атомом углерода, к которому они присоединены;

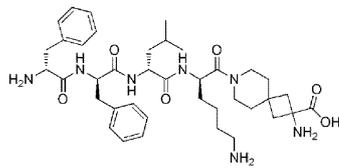
R^{z3} каждый независимо выбран из H,



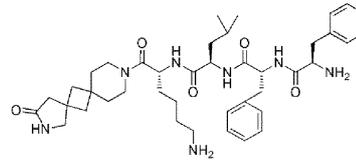


каждый из R^2 , R^3 , R^7 , R^8 независимо выбран из H, метила или $-C(=O)O$ -трет-бутила.

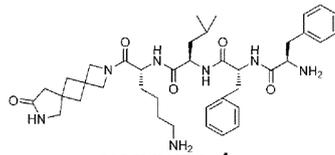
В предпочтительном варианте осуществления изобретения предложено соединение общей формулы (I) или (II) или его стереоизомер, гидрат, метаболит, сольват, фармацевтически приемлемая соль или сокристалл, где соединение включает, без ограничения этим, одно из соединений, представленных следующей структурной формулой:



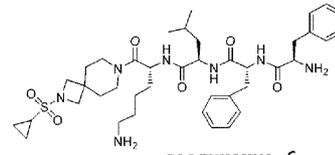
соединение 2



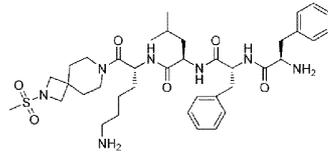
соединение 3



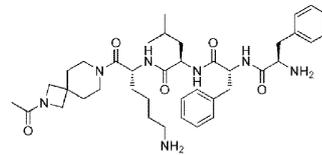
соединение 4



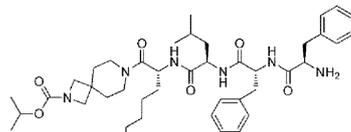
соединение 6



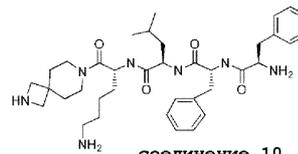
соединение 7



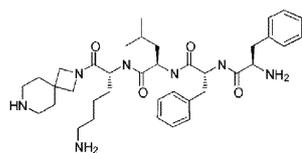
соединение 8



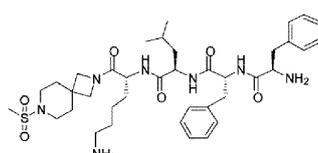
соединение 9



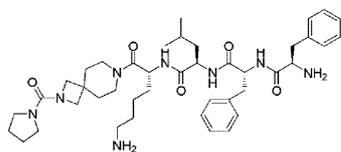
соединение 10



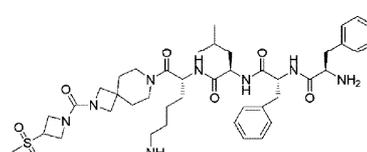
соединение 11



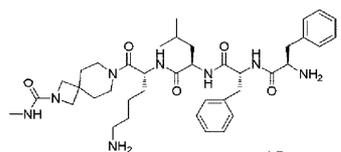
соединение 12



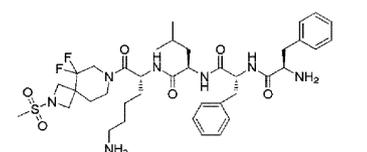
соединение 13



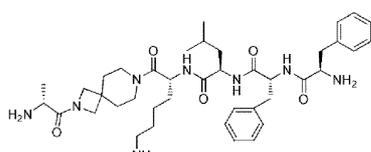
соединение 14



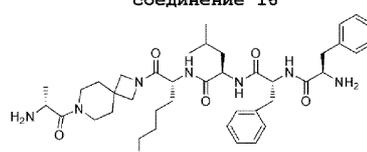
соединение 15



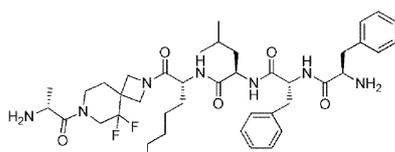
соединение 16



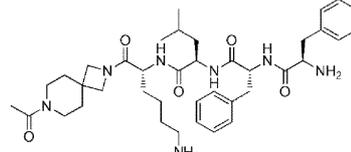
соединение 17



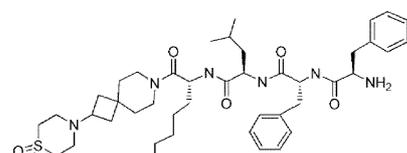
соединение 18



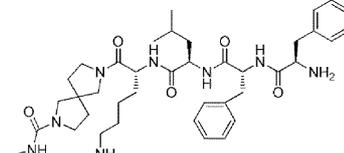
соединение 19



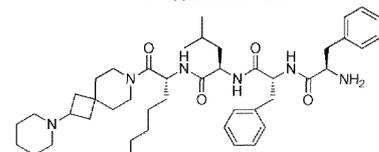
соединение 20



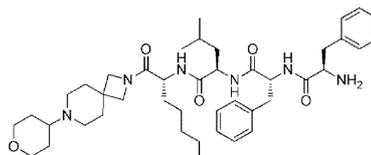
соединение 21



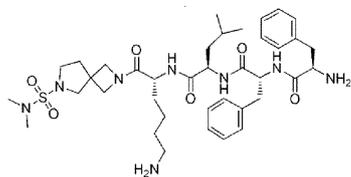
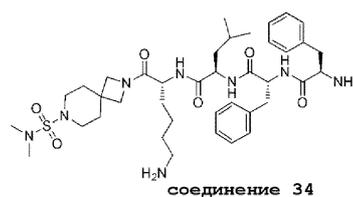
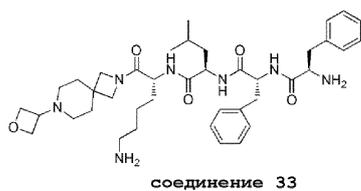
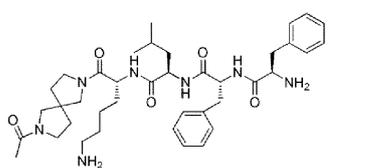
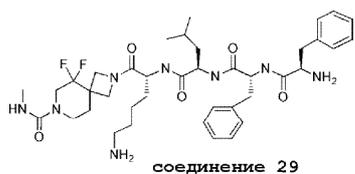
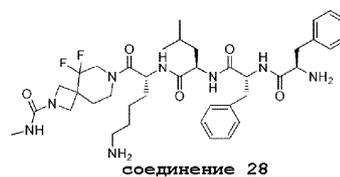
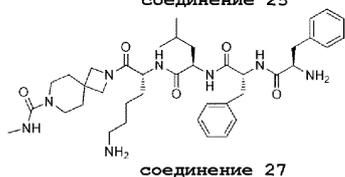
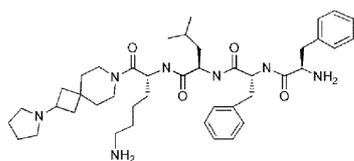
соединение 22

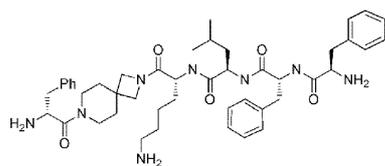


соединение 23

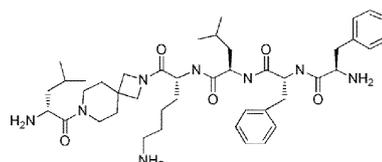


соединение 24

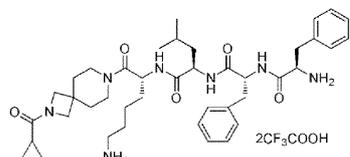




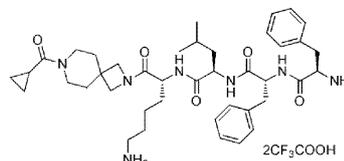
соединение 37



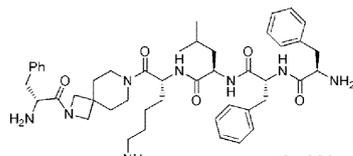
соединение 38



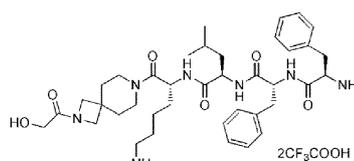
соединение 39



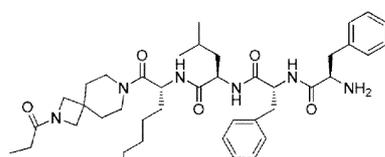
соединение 40



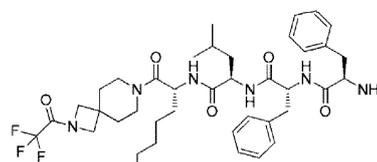
соединение 41



соединение 42



соединение 43



соединение 44

В одном предпочтительном варианте осуществления изобретения предложено соединение общей формулы (I) или (II), или его стереоизомер, гидрат, метаболит, сольват, фармацевтически приемлемая соль или сокристалл. Фармацевтически приемлемая соль выбрана из трифторацетата.

В изобретении предложены фармацевтическая композиция, включающая соединение общей формулы (I) или (II) или его стереоизомер, гидрат, метаболит, сольват, фармацевтически приемлемую соль или сокристалл, и один или более фармацевтически приемлемых носителей и/или вспомогательных веществ.

Применение соединения общей формулы (I) или (II) согласно настоящему изобретению или его стереоизомера, гидрата, метаболита, сольвата, фармацевтически приемлемой соли или сокристалла, или фармацевтической композиции, включающей соединение общей формулы (I) или (II) или его стереоизомер, гидрат, метаболит, сольват, фармацевтически приемлемую соль или сокристалл, в производстве лекарственного средства для лечения или профилактики заболевания или состояния, ассоциированного с опиоидным κ-рецептором, у млекопитающего.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения, где ассоциированное с опиоидным κ-рецептором заболевание или состояние выбрано из группы, состоящей из боли, воспаления, зуда, отека, гипонатриемии, гипокалиемии, непроходимости кишечника, кашля и глаукомы.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения, где боль выбрана из группы, состоящей из нейропатической боли, физической боли, висцеральной боли и дерматалгии.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения, где боль выбрана из группы, состоящей из боли при артрите, боли при уrolитиазе, гистероспазма, дисменореи, эндометриоза, диспепсии, послеоперационной боли, боли после терапевтического лечения, боли в глазах, боли при отите, боли при фульминантной печеночной недостаточности вследствие рака и боли, связанной с нарушениями ЖКТ.

В изобретении предложен способ лечения или предотвращения заболевания или состояния, ассоциированного с опиоидным κ-рецептором, у млекопитающего, включающий введение соединения общей формулы (I) или (II) или его стереоизомера, гидрата, метаболита, сольвата, фармацевтически приемлемой соли или сокристалла или фармацевтической композиции, включающей соединение общей формулы (I) или (II) или его стереоизомер, гидрат, метаболит, сольват, фармацевтически приемлемую соль или сокристалл. Ассоциированное с опиоидным κ-рецептором заболевание или состояние предпочтительно выбрано из группы, состоящей из боли, воспаления, зуда, отека, гипонатриемии, гипокалиемии, непроходимости кишечника, кашля и глаукомы. Боль предпочтительно выбрана из группы, состоящей из нейропатической боли, соматической боли, висцеральной боли и дерматалгии; или боль предпочтительно выбрана из группы, состоящей из боли при артрите, боли при уrolитиазе, гистероспазма, дисменореи, эндометриоза, диспепсии, послеоперационной боли, боли после терапевтического лечения, боли в глазах, боли при отите, боли при фульминантной печеночной недостаточности вследствие рака и боли, связанной с нарушениями ЖКТ (нарушениями со стороны желудочно-кишечного тракта).

Если не указано иное, термины, используемые в описании и формуле изобретения, имеют следующие значения.

Углерод, водород, кислород, сера, азот или галоген, содержащиеся в группах и соединениях согласно настоящему изобретению, включают их изотопы, а углерод, водород, кислород, сера, азот или галоген, содержащиеся в группах и соединениях согласно настоящему изобретению, необязательно дополнительно заменены одним или более соответствующими изотопами этих атомов, где изотопы углерода включают ^{12}C , ^{13}C и ^{14}C , изотопы водорода включают протий (H), дейтерий (D, также известный как тяжелый водород), тритий (T, также известный как сверхтяжелый водород), изотопы кислорода включают ^{16}O , ^{17}O и ^{18}O , изотопы серы включают ^{32}S , ^{33}S , ^{34}S и ^{36}S , изотопы азота включают ^{14}N и ^{15}N , изотопы фтора включают ^{19}F , изотопы хлора включают ^{35}Cl и ^{37}Cl , изотопы брома включают ^{79}Br и ^{81}Br .

"Алкил" означает нормальную и разветвленную одновалентную насыщенную углеводородную группу, при этом группа с нормальной и разветвленной цепью имеет основную цепь, содержащую от 1 до 10 атомов углерода, предпочтительно от 1 до 8 атомов углерода, более предпочтительно от 1 до 6 атомов углерода, еще более предпочтительно от 1 до 4 атомов углерода, наиболее предпочтительно от 1 до 2 атомов углерода. Примеры алкила включают, без ограничения перечисленными, метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, н-пентил, 2-пентил, 3-пентил, 2-метил-2-бутил, 3-метил-2-бутил, н-гексил, н-гептил, н-октил, н-нонил и н-децил и т.д. Алкил может быть дополнительно необязательно замещен 0, 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, =O, гидроксила, $-\text{SR}^{19}$, нитро, циано, C_{1-6} алкила, C_{1-6} гидроксилалкила, C_{1-6} алкокси, C_{2-6} алкенила, C_{2-6} алкинила, C_{3-8} карбоциклической группы, 3-8-членной гетероциклической группы, $-(\text{CH}_2)_a\text{-C}(=\text{O})\text{-R}^{19}$, $-(\text{CH}_2)_k\text{-C}(=\text{O})\text{-O-R}^{19}$, $-(\text{CH}_2)_k\text{-C}(=\text{O})\text{-NR}^{19}\text{R}^{19a}$, $-(\text{CH}_2)_k\text{-S}(=\text{O})_j\text{-R}^{19}$, $-\text{O-C}(=\text{O})\text{-O-R}^{19}$ или $-\text{NR}^{19}\text{R}^{19a}$, где каждый из R^{19} и R^{19a} независимо выбран из H, гидроксила, amino, карбоксила, C_{1-8} алкила, C_{1-8} алкокси, C_{2-8} алкенила, C_{2-8} алкинила, 3-10-членной карбоциклической группы, 4-10-членной гетероциклической группы, 3-10-членной карбоциклилоксигруппы или 4-10-членной гетероциклической оксигруппы, k выбран из 0, 1, 2, 3, 4 или 5, j выбран из 0, 1 или 2. Алкил, k, j, R^{19} и R^{19a} в настоящем документе имеют определенные выше значения.

"Алкилен" означает нормальную или разветвленную двухвалентную насыщенную углеводородную группу, включающую $-(\text{CH}_2)_v$ (v является целым числом от 1 до 10), и примеры алкилена включают, без ограничения перечисленными, метилен, этилен, пропилен, бутилен и т.п. Алкилен может быть дополнительно необязательно замещен 0, 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, =O, гидроксила, $-\text{SR}^{19}$, нитро, циано, C_{1-6} алкила, C_{1-6} алкилгидроксила, C_{1-6} алкокси, C_{2-6} алкенила, C_{2-6} алкинила, C_{3-8} карбоциклической группы, 3-8-членной гетероциклической группы, $-(\text{CH}_2)_a\text{-C}(=\text{O})\text{-R}^{19}$, $-(\text{CH}_2)_k\text{-C}(=\text{O})\text{-O-R}^{19}$, $-(\text{CH}_2)_k\text{-C}(=\text{O})\text{-NR}^{19}\text{R}^{19a}$, $-(\text{CH}_2)_k\text{-S}(=\text{O})_j\text{-R}^{19}$, $-\text{O-C}(=\text{O})\text{-O-R}^{19}$ или $-\text{NR}^{19}\text{R}^{19a}$. Если количество заместителей в алкиленовой группе равно 2 или больше, заместители могут быть конденсированы друг с другом с образованием циклической структуры. Алкилен в настоящем документе имеет определенное выше значение.

"Алкокси" означает одновалентную группу О-алкильной группы, где алкил имеет определенное в настоящем документе значение, и примеры алкокси включают, без ограничения, метокси, этокси, 1-пропокси, 2-пропокси, 1-бутокси, 2-метил-1-пропокси, 2-бутокси, 2-метил-2-пропокси, 1-пентилокси, 2-пентилокси, 3-пентилокси, 2-метил-2-бутокси, 3-метил-2-бутокси, 3-метил-1-бутокси и 2-метил-1-бутокси и т.п.

"Алкенил" означает нормальную или разветвленную моновалентную ненасыщенную углеводородную группу, содержащую по меньшей мере 1, обычно 1, 2 или 3 углерод-углеродных двойных связей, при этом ее основная цепь включает 2-10 атомов углерода, более предпочтительно 2-6 атомов углерода, еще более предпочтительно 2-4 атома углерода в основной цепи. Примеры алкенила включают, без ограничения перечисленными, винил, аллил, 1-пропенил, 2-пропенил, 1-бутенил, 2-бутенил, 3-бутенил, 1-пентенил, 2-пентенил, 3-пентенил, 4-пентенил, 1-метил-1-бутенил, 2-метил-1-бутенил, 2-метил-3-бутенил, 1-гексенил, 2-гексенил, 3-гексенил, 4-гексенил, 5-гексенил, 1-метил-1-пентенил, 2-метил-1-пентенил, 1-гептенил, 2-гептенил, 3-гептенил, 4-гептенил, 1-октенил, 3-октенил, 1-ноненил, 3-ноненил, 1-деценил, 4-деценил, 1,3-бутадиен, 1,3-пентадиен, 1,4-пентадиен и 1,4-гексадиен и т.п.; алкенил может быть дополнительно необязательно замещен 0, 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, =O, гидроксила, $-\text{SR}^{19}$, нитро, циано, C_{1-6} алкила, C_{1-6} алкилгидроксила, C_{1-6} алкокси, C_{2-6} алкенила, C_{2-6} алкинила, C_{3-8} карбоциклической группы, 3-8-членной гетероциклической группы, $-(\text{CH}_2)_a\text{-C}(=\text{O})\text{-R}^{19}$, $-(\text{CH}_2)_k\text{-C}(=\text{O})\text{-O-R}^{19}$, $-(\text{CH}_2)_k\text{-C}(=\text{O})\text{-NR}^{19}\text{R}^{19a}$, $-(\text{CH}_2)_k\text{-S}(=\text{O})_j\text{-R}^{19}$, $-\text{O-C}(=\text{O})\text{-O-R}^{19}$ или $-\text{NR}^{19}\text{R}^{19a}$. Алкенил в настоящем документе имеет определенное выше значение.

"Алкинил" означает нормальную или разветвленную моновалентную ненасыщенную углеводородную группу, содержащую по меньшей мере 1, обычно 1, 2 или 3 углерод-углеродных тройных связей, при этом основная цепь включает 2-10 атомов углерода, более предпочтительно 2-6 атомов углерода, еще более предпочтительно 2-4 атома углерода в основной цепи. Примеры алкинила включают, без ограничения перечисленными, этинил, 1-пропинил, 2-пропинил, бутинил, 2-бутинил, 3-бутинил, 1-метил-2-пропинил, 4-пентинил, 3-пентинил, 1-метил-2-бутинил, 2-гексинил, 3-гексинил, 2-гептинил, 3-гептинил, 4-гептинил, 3-октинил, 3-нонинил и 4-децинил и т.п.; алкинил может быть дополнительно

необязательно замещен 0, 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, =O, гидроксильной, $-SR^{19}$, нитро, циано, C_{1-6} -алкила, C_{1-6} -алкилгидроксильной, C_{1-6} -алкокси, C_{2-6} -алкенила, C_{2-6} -алкинила, C_{3-8} -карбоциклической группы, 3-8-членной гетероциклической группы, $-(CH_2)_a-C(=O)-R^{19}$, $-(CH_2)_k-C(=O)-O-R^{19}$, $-(CH_2)_k-C(=O)-NR^{19}R^{19a}$, $-(CH_2)_k-S(=O)_j-R^{19}$, $-O-C(=O)-O-R^{19}$ или $-NR^{19}R^{19a}$. Алкинил в настоящем документе имеет определенное выше значение.

"Циклоалкил" означает одновалентную насыщенную карбоциклическую углеводородную группу, обычно содержащую от 3 до 10 атомов углерода, и неограничивающие примеры включают циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил или циклогептил и т.п. Циклоалкил может быть дополнительно необязательно замещен 0, 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, =O, гидроксильной, $-SR^{19}$, нитро, циано, C_{1-6} -алкила, C_{1-6} -алкилгидроксильной, C_{1-6} -алкокси, C_{2-6} -алкенила, C_{2-6} -алкинила, C_{3-8} -карбоциклической группы, 3-8-членной гетероциклической группы, $-(CH_2)_a-C(=O)-R^{19}$, $-(CH_2)_k-C(=O)-O-R^{19}$, $-(CH_2)_k-C(=O)-NR^{19}R^{19a}$, $-(CH_2)_k-S(=O)_j-R^{19}$, $-O-C(=O)-O-R^{19}$ или $-NR^{19}R^{19a}$. Циклоалкил в настоящем документе имеет определенное выше значение.

"Карбоциклил" означает насыщенное или ненасыщенное, ароматическое или неароматическое кольцо. Ароматическое или неароматическое кольцо может быть 3-10-членной моноциклической, 4-12-членной бициклической или 10-15-членной трициклической кольцевой системой. Карбоциклическая группа может быть присоединена к кольцу с внутренним мостиком или спирокольцу. Неограничивающие примеры включают циклопропил, циклобутил, циклопентил, 1-циклопентил-1-алкенил, 1-циклопентил-2-алкенил, 1-циклопентил-3-алкенил, циклогексил, 1-циклогексил-2-алкенил, 1-циклогексил-3-алкенил, циклогексенил, циклогексаденил, циклогептил, циклооктил, циклононил, циклодецил, циклоундецил, циклододецил, фенил или нафтил. Карбоциклическая группа может быть дополнительно необязательно замещена 0, 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, =O, гидроксильной, $-SR^{19}$, нитро, циано, C_{1-6} -алкила, C_{1-6} -алкилгидроксильной, C_{1-6} -алкокси, C_{2-6} -алкенила, C_{2-6} -алкинила, C_{3-8} -карбоциклической группы, 3-8-членной гетероциклической группы, $-(CH_2)_a-C(=O)-R^{19}$, $-(CH_2)_k-C(=O)-O-R^{19}$, $-(CH_2)_k-C(=O)-NR^{19}R^{19a}$, $-(CH_2)_k-S(=O)_j-R^{19}$, $-O-C(=O)-O-R^{19}$ или $-NR^{19}R^{19a}$. Карбоцикл в настоящем документе имеет определенное выше значение.

"Гетероцикл" означает насыщенное или ненасыщенное, ароматическое или неароматическое кольцо, при этом ароматическое или неароматическое кольцо может быть 3-10-членной моноциклической, 4-12-членной бициклической или 10-15-членной трициклической системой, и включает 1-4 гетероатома, выбранных из N, O или S, предпочтительно 3-8-членной гетероциклической группой, и необязательно замещенный N, S в кольце гетероциклической группы может быть окислен до разных степеней окисления. Гетероциклическая группа может быть связана с гетероатомом или атомом углерода, и гетероциклическая группа может быть связана с кольцом, содержащим мостик, или со спирокольцом. Неограничивающие примеры включают эпоксиэтил, эпоксипропил, азацклопропил, оксоциклобутил, азацклобутил, тиогетеробутил, 1,3-диоксоланил, 1,4-диоксоланил, 1,3-диоксогексил, азацклогептил, оксепанил, тиоциклогептил, оксазепинил, диазепинил, тиазепинил, пиридил, пиперидинил, гомопиперидинил, фурил, тиенил, пиранил, N-алкилпирролил, пиримидинил, пиразинил, пиридазинил, пиперазинил, гомопиперазинил, имидазоллил, пиперидинил, морфолинил, тиоморфолинил, оксатианил, дигидрофуранил, дигидропиранил, дитиапентанил, тетрагидрофуранил, тетрагидротриенил, тетрагидропиранил, тетрагидропирианил, тетрагидропирролил, тетрагидроимидазоллил, тетрагидротиазоллил, тетрагидропиранил, бензидамидазоллил, бензопиридил, пирролопиридил, бензодигидрофурил, 2-пирролинил, 3-пирролинил, дигидроиндолил, 2H-пиранил, 4H-пиранил, диоксан, 1,3-диоксолил, пиразолинил, дитиаалкил, дитиоланил, дигидротриенил, пиразолидинил, имидазолинил, имидазолидинил, 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинил, 3-азабицикло[3.1.0]гексил, 3-азабицикло[4.1.0]гептил, азабицикло[2.2.2]гексил, 3H-индолилхинолизинил, N-пиридилмочевину, 1,1-диоксотиморфолинил, азабицикло[3.2.1]октил, азабицикло[5.2.0]нонанил, оксатрицикло[5.3.1.1]додецил, азаадамантил и оксапирило[3.3]гептил. Гетероциклическая группа может быть дополнительно необязательно замещена 0, 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, =O, гидроксильной, $-SR^{19}$, нитро, циано, C_{1-6} -алкила, C_{1-6} -алкилгидроксильной, C_{1-6} -алкокси, C_{2-6} -алкенила, C_{2-6} -алкинила, C_{3-8} -карбоциклической группы, 3-8-членной гетероциклической группы, $-(CH_2)_a-C(=O)-R^{19}$, $-(CH_2)_k-C(=O)-O-R^{19}$, $-(CH_2)_k-C(=O)-NR^{19}R^{19a}$, $-(CH_2)_k-S(=O)_j-R^{19}$, $-O-C(=O)-O-R^{19}$ или $-NR^{19}R^{19a}$. Гетероциклы в настоящем документе определены, как описано выше.

"Необязательный" или "необязательно" означает, что описанное впоследствии событие или условия могут, но не должны обязательно, иметь место, указывая на случай, когда событие или условия существуют или не существуют. Например, "алкильная группа, необязательно замещенная F" означает, что алкильная группа может, но не должна обязательно, быть замещена F, указывая на случай, когда алкильная группа замещена F, и случай, когда алкильная группа не замещена F.

"Фармацевтическая композиция" означает смесь одного или более соединений, описанных в настоящем документе, или их физиологически/фармацевтически приемлемой соли, или их стереоизомера, сольвата, фармацевтически приемлемой соли или сокристалла и других компонентов, где другие компоненты включают физиологически/фармацевтически приемлемые носители и вспомогательные вещества.

"Стереизомер" означает изомеры, получаемые в результате пространственного расположения атомов в молекуле, включая цис- и транс-изомеры, энантиомеры и конформационные изомеры.

"Эффективная доза" означает количество соединения, которое вызывает физиологический или медицинский ответ в ткани, системе или организме субъекта, где такое количество требуется. При введении субъекту оно является достаточным для предотвращения возникновения или для уменьшения одного или более симптомов заболеваний или состояний, подвергаемых лечению, в некоторой степени.

"Сольват" означает соединение согласно изобретению или его соль, которые также включают стехиометрическое или нестехиометрическое количество растворителя, связанного межмолекулярными нековалентными силами. В случае, когда растворителем является вода, он представляет собой гидрат.

Подробное описание

Технические решения настоящего изобретения подробно описаны ниже со ссылкой на сопровождающие чертежи и пример, при этом они включены в объем настоящего изобретения, но не ограничивают его.

Структура соединения определена с помощью ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и/или масс-спектрометрии (МС). Значение сдвига ЯМР (δ) приведено в единицах 10^{-6} (м.д.). ЯМР измеряли при использовании ЯМР-спектрометра (Bruker Avance III 400 и Bruker Avance 300), растворителем для измерения являлся дейтерированный диметилсульфоксид (DMCO- d_6), дейтерированный хлороформ (CDCl₃), дейтерированный метанол (CD₃OD), а внутренним стандартом - тетраметилсилан (ТМС).

МС измеряли при использовании (Agilent 6120В (ИЭР) и Agilent 6120В (ХИАД)).

ВЭЖХ измеряли при использовании жидкостного хроматографа высокого давления Agilent 1260DAD (SB-C18 Zorbax 100×4,6 мм).

Для тонкослойной хроматографии использовали пластины с силикагелем Yantai Yellow Sea HSGF254 или Qingdao GF254. Пластины с силикагелем, используемые для тонкослойной хроматографии (ТСХ), имеют параметры 0,15-0,20 мм, а для разделения и очистки продукта с помощью тонкослойной хроматографии - параметры 0,4-0,5 мм.

В качестве носителя для колоночной хроматографии обычно использовали силикагель Yantai Huanghai 200-300 меш.

Известные исходные материалы данного изобретения могут быть синтезированы согласно способам, известным в уровне техники, или могут быть приобретены в Titan Technology, Energy Chemical, Shanghai DEMO, Chengdu Kelong Chemical, Accela ChemBio Co. Ltd, and J&K Scientific Ltd и т.п.

Атмосфера азота относится к реакционному сосуду, подсоединенному к баллону с азотом, объемом приблизительно 1 л.

Атмосфера водорода относится к реакционному сосуду, подсоединенному к баллону с водородом, объемом приблизительно 1 л.

Реакция гидрирования обычно включала вакуумирование и введение водорода с повтором этой операции 3 раза.

Если специально не указано в примерах, всю реакцию проводили в атмосфере азота.

Если специально не указано в примерах, весь раствор означает водный раствор.

Если специально не указано в примерах, вся температура реакции является комнатной температурой.

Комнатная температура является оптимальной температурой реакции, находящейся в пределах от 20 до 30°C.

Если специально не указано в примерах, все единицы М представляют собой моль/л.

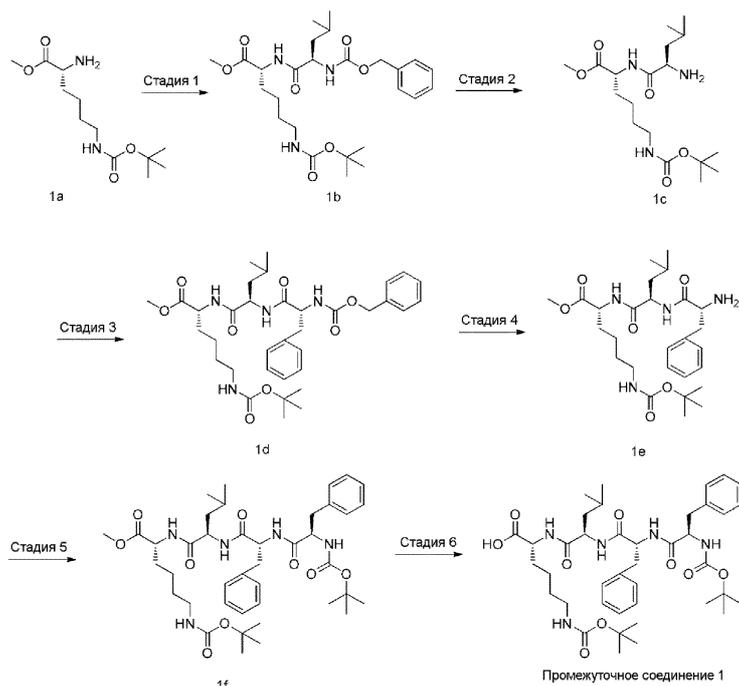
Woc означает трет-бутилоксикарбонильную группу.

Cbz означает бензилоксикарбонильную группу.

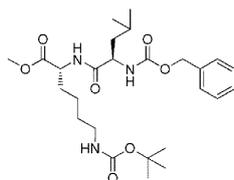
THP означает тетрагидропиранильную группу.

Промежуточное соединение 1.

(2R)-6-(трет-Бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексановая кислота
(Промежуточное соединение 1)

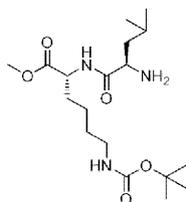


Стадия 1. Метил-(2R)-2-[[2-(2-бензилоксикарбониламино)-4-метилпентаноил]амино]-6-(трет-бутоксикарбониламино)гексаноат (1b)



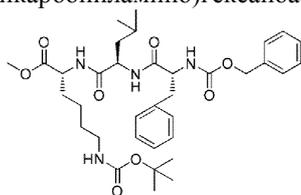
Метил-(2R)-2-амино-6-(трет-бутоксикарбониламино)гексаноат (1a) (2,6 г, 10 ммоль) растворяли в этилацетате (50 мл) при комнатной температуре и охлаждали до 0°C. В реакционный раствор последовательно добавляли (2R)-2-(бензилоксикарбониламино)-4-метилпентановую кислоту (2,8 г, 11 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол (1,62 г, 12 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (2,3 г, 12 ммоль) и повышали температуру до 25°C, после чего реакции позволяли идти при этой температуре в течение 15 ч. В реакционный раствор добавляли 1 М водный раствор соляной кислоты (25 мл) для промывки реакции и подвергали смесь процессу разделения жидкой фазы. К органической фазе добавляли насыщенный водный раствор бикарбоната натрия (25 мл) и перемешивали смесь в течение 30 мин, затем смесь подвергали процессу разделения жидкой фазы. Органическую фазу промывали 1 М водным раствором соляной кислоты (25 мл), насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (25 мл), насыщенным водным раствором хлорида натрия (25 мл) в таком порядке и сушили над безводным сульфатом натрия (2 г). Затем ее фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением метил-(2R)-2-[[2-(2-бензилоксикарбониламино)-4-метилпентаноил]амино]-6-(трет-бутоксикарбониламино)гексаноата (1b) в виде белого вспененного твердого вещества (5,0 г, выход 99%).

Стадия 2. Метил-(2R)-2-[[2-(2-амино-4-метилпентаноил)амино]-6-(трет-бутоксикарбонил-амино)гексаноат (1c)



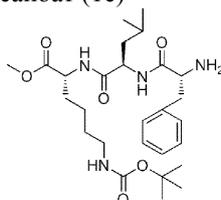
Метил-(2R)-2-[[2-(2-бензилоксикарбониламино)-4-метилпентаноил]амино]-6-(трет-бутоксикарбониламино)гексаноат (1b) (5,0 г, 10 ммоль) растворяли в этилацетате (50 мл) при комнатной температуре и добавляли в реакционный раствор 10% палладий на угле (1 г, 20% вес./вес.), после чего атмосферу заменяли водородом 3 раза. Реакции позволяли идти в атмосфере водорода при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор фильтровали через диатомит (3 г) и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного метил-(2R)-2-[[2-(2-амино-4-метилпентаноил)амино]-6-(трет-бутоксикарбониламино)гексаноата (1c) в виде белого вспененного твердого вещества (3,7 г, выход 99%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 3. Метил-(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(бензилоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]-6-(трет-бутоксикарбониламино)гексаноат (1d)



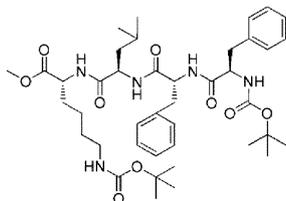
Неочищенный метил-(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-4-метилпентаноил]амино]-6-(трет-бутоксикарбонил-амино)гексаноат (1c) (3,7 г, 9,9 ммоль) растворяли в этилацетате (50 мл) при комнатной температуре и охлаждали до 0°C. В реакционный раствор последовательно добавляли (2R)-2-(бензилокси-карбониламино)-3-фенилпропановую кислоту (3,3 г, 11 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (1,62 г, 12 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (2,3 г, 12 ммоль) и повышали температуру до 25°C, после чего реакции позволяли идти при этой температуре в течение 5 ч. Добавляли 1 М водную соляную кислоту (25 мл) для промывки реакции и подвергали смесь процессу разделения жидкой фазы. К органической фазе добавляли насыщенный водный раствор бикарбоната натрия (25 мл) и перемешивали смесь в течение 30 мин, после чего смесь подвергали процессу разделения жидкой фазы. Органическую фазу промывали 1 М водным раствором соляной кислоты (25 мл), насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (25 мл), насыщенным водным раствором хлорида натрия (25 мл) в таком порядке и сушили над безводным сульфатом натрия (2 г). Затем ее фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного метил-(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(бензилоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]-6-(трет-бутокси-карбониламино)гексаноата (1d) в виде белого вспененного твердого вещества (3,0 г, выход 46%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 4. Метил-(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]-амино]-6-(трет-бутоксикарбониламино)гексаноат (1e)



Неочищенный метил-(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(бензилокси-карбониламино)-3-фенилпропаноил]-амино]-4-метилпентаноил]амино]-6-(трет-бутоксикарбониламино)гексаноат (1d) (3,0 г, 4,58 ммоль) растворяли в этилацетате (50 мл) при комнатной температуре, в реакционный раствор добавляли 10% палладий на угле (1 г, 33% вес./вес.) и заменяли атмосферу водородом 3 раза. Реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 5 ч под атмосферой водорода (баллон). Реакционный раствор фильтровали через диатомит (3 г) и выпаривали фильтрат досуха при пониженном давлении. Добавляли этилацетат (6 мл) и нагревали смесь до растворения. После добавления петролейного эфира (6 мл) температуру медленно снижали до комнатной температуры с образованием осадка и фильтровали. Отфильтрованный осадок сушили при 50°C при пониженном давлении с получением метил-(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]-6-(трет-бутоксикарбониламино)гексаноата (1e) в виде белого вспененного твердого вещества (2,1 г, выход 88%).

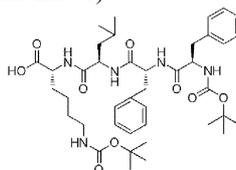
Стадия 5. Метил-(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]-гексаноат (1f)



Метил-(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]-6-(трет-бутоксикарбониламино)гексаноат (1e) (2,1 г, 4,0 ммоль) растворяли в этилацетате (30 мл) при комнатной температуре и охлаждали до 0°C. В реакционный раствор последовательно добавляли (2R)-2-(трет-бутоксикарбонил)-3-фенилпропановую кислоту (1,3 г, 4,9 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (0,65 г, 4,8 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (1,1 г, 5,7 ммоль) и повышали температуру до 25°C, после чего реакции позволяли идти при этой температуре в течение 5 ч. Добавляли 1 М водную соляную кислоту (15 мл) для промывки реакции и подвергали смесь процессу разделения жидкой фазы. К органической фазе добавляли насыщенный водный раствор бикарбоната натрия (15 мл)

и перемешивали смесь в течение 30 мин, после чего смесь подвергали процессу разделения жидкой фазы. Органическую фазу промывали 1 М водным раствором соляной кислоты (15 мл), насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (15 мл), насыщенным водным раствором хлорида натрия (15 мл) в таком порядке и сушили над безводным сульфатом натрия. Затем ее фильтровали, выпаривали фильтрат при пониженном давлении и разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир/этилацетат (об./об.) =100:1-5:1) с получением метил-(2R)-6-(трет-бутоксикарбонил-амино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноата (1f) в виде белого вспененного твердого вещества (2,3 г, выход 74%).

Стадия 6. (2R)-6-(трет-Бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]-гексановая кислота (Промежуточное соединение 1)



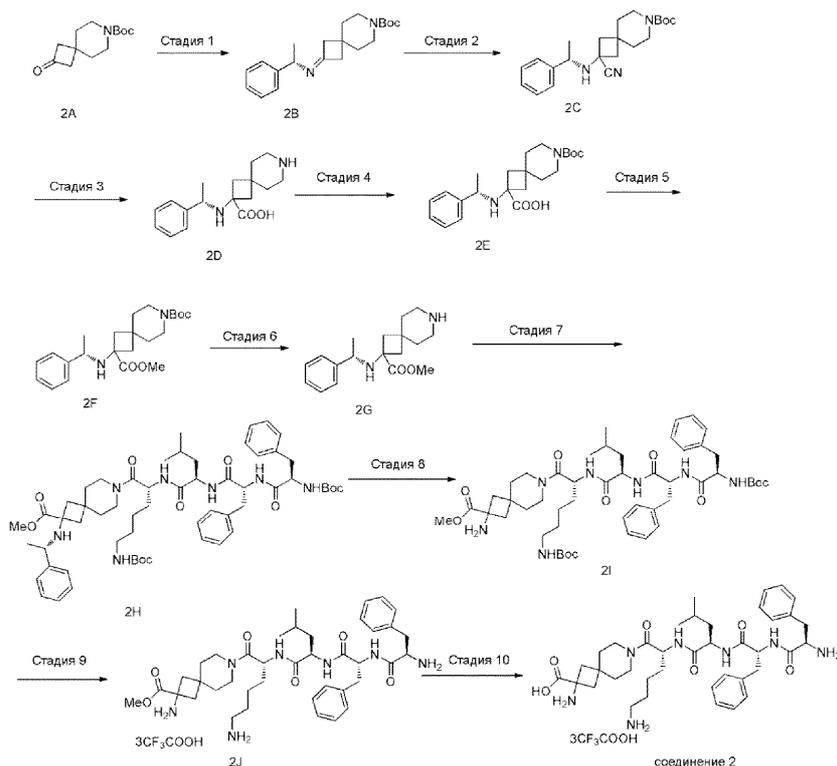
Метил-(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбонил-амино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноат (1f) (2,3 г, 3,0 ммоль) растворяли в метаноле (20 мл) при комнатной температуре. В реакционный раствор добавляли водный раствор гидроксида натрия (200 мг, 5,0 ммоль) (20 мл) и реакции позволяли идти при этой температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор доводили до pH <4 1 М водным раствором соляной кислоты и затем экстрагировали этилацетатом (40 мл), после чего смесь подвергали процессу разделения жидкой фазы, органическую фазу сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением (2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексановой кислоты (Промежуточное соединение 1) в виде белого вспененного твердого вещества (2,1 г, выход 93%).

МС m/z (ИЭР): 752,5 [M-H]⁻;

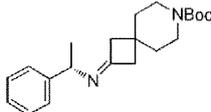
¹H-ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,38-7,27 (м, 3H), 7,25-7,07 (м, 7H), 4,82-4,62 (м, 1H), 4,61-4,41 (м, 2H), 4,37-4,18 (м, 1H), 3,37-2,67 (м, 6H), 2,00-1,65 (м, 3H), 1,59-1,37 (м, 15H), 1,35-1,26 (м, 9H), 0,90-0,80 (м, 6H).

Пример 1.

2-Амино-7-[(2R)-6-амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоновая кислота; три-трифторацетат

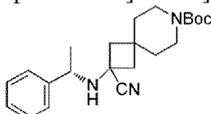


Стадия 1. трет-Бутил-2-[(1S)-1-фенилэтил]имино-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (2B)



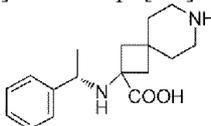
трет-Бутил-2-оксо-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (2A) (7,2 г, 30 ммоль), (1S)-1-фенэтиламин (3,7 г, 31 ммоль) растворяли в толуоле (100 мл) и добавляли п-толуолсульфовую кислоту (300 мг, 1,74 ммоль). Насадку Дина-Старка использовали при кипячении системы с обратным холодильником для отделения воды. Через 6 ч реакционный раствор выпаривали досуха при пониженном давлении с получением неочищенного трет-бутил-2-[(1S)-1-фенилэтил]имино-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (2B) в виде желтого вспененного твердого вещества (10 г, выход 97%).

Стадия 2. трет-Бутил-2-циано-2-[[1-(1S)-1-фенилэтил]амино]-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (2C)



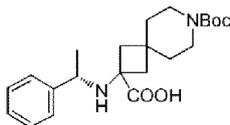
Неочищенный трет-бутил 2-[(1S)-1-фенилэтил]имино-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (2B) (10 г, 29,2 ммоль) растворяли в метаноле (90 мл) при комнатной температуре и охлаждали до 0°C в ледяной бане. При перемешивании добавляли хлорид цинка (210 мг, 1,54 ммоль) и по каплям медленно добавляли триметилсилилцианид (3 г, 30,2 ммоль). Реакцию продолжали при 0°C в течение 3 ч. Реакционный раствор фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении. Остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об./об.) = 4:1) с получением трет-бутил-2-циано-2-[[1-(1S)-1-фенилэтил]амино]-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (2C) в виде желтого вспененного твердого вещества (4,7 г, выход 44%).

Стадия 3. 2-[[1-(1S)-1-Фенилэтил]амино]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоновая кислота (2D)



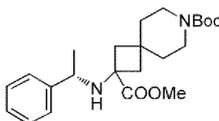
трет-Бутил-2-циано-2-[[1-(1S)-1-фенилэтил]амино]-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (2C) (2 г, 5,4 ммоль) растворяли в концентрированной соляной кислоте (20 мл) при комнатной температуре и затем смесь кипятили с обратным холодильником в течение 40 ч. Температуру уменьшали до комнатной температуры и реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенной 2-[[1-(1S)-1-фенилэтил]амино]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоновой кислоты (2D) в виде желтой маслянистой жидкости (1,5 г, выход 96%), которую использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 4. 7-трет-Бутоксикарбонил-2-[[1-(1S)-1-фенилэтил]амино]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоновая кислота (2E)



Неочищенную 2-[[1-(1S)-1-фенилэтил]амино]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоновую кислоту (2D) (1 г, 3,47 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (10 мл) при комнатной температуре. Добавляли водный раствор гидроксида натрия (0,5 г, 12,5 ммоль) (10 мл), затем добавляли ди-трет-бутилдикарбонат (908 мг, 4,16 ммоль) и реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 6 ч. Реакционный раствор фильтровали с получением неочищенной 7-трет-бутоксикарбонил-2-[[1-(1S)-1-фенилэтил]амино]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоновой кислоты (2E) в виде белого твердого вещества (0,8 г, выход 60%).

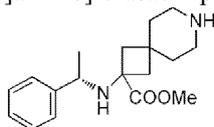
Стадия 5. O⁷-трет-бутил-O²-метил-2-[[1-(1S)-1-фенилэтил]амино]-7-азаспиро[3.5]нонан-2,7-дикарбоксилат (2F)



7-трет-Бутоксикарбонил-2-[[1-(1S)-1-фенилэтил]амино]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоновую кислоту (2E) (775 мг, 2,0 ммоль) растворяли в дихлорметане (10 мл) при комнатной температуре и добавляли метанол (10 мл). В раствор при перемешивании при комнатной температуре последовательно добавляли 1-гидроксibenзотриазол (270 мг, 2,0 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (0,6 г, 3,13 ммоль) и системе позволяли реагировать в течение 15 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 1:1) с получением O⁷-трет-бутил-O²-метил-2-[[1-(1S)-1-фенилэтил]амино]-7-азаспиро[3.5]нонан-2,7-дикарбоксилата (2F) в

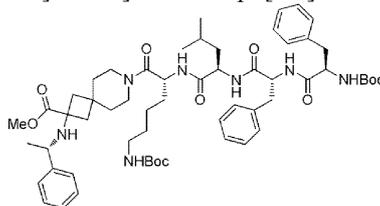
виде светло-желтого вспененного твердого вещества (560 мг, выход 70%).

Стадия 6. Метил-2-[[[(1S)-1-фенилэтил]амино]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (2G)



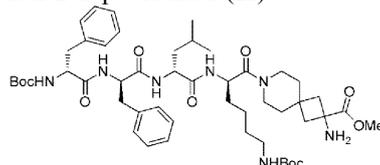
O⁷-трет-Бутил-O²-метил-2-[[[(1S)-1-фенилэтил]амино]-7-азаспиро[3.5]нонан-2,7-дикарбоксилат (2F) (500 мг, 1,24 ммоль) растворяли в дихлорметане (4,5 мл) при комнатной температуре и охлаждали до 0°C. Добавляли трифторуксусную кислоту (1,5 мл) и позволяли реакции идти при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении с получением метил-2-[[[(1S)-1-фенилэтил]амино]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилата (2G) в виде желтой маслянистой жидкости (320 мг, выход 85%).

Стадия 7. Метил-7-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпроаноил]амино]-3-фенилпроаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-2-[[[(1S)-1-фенилэтил]амино]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат



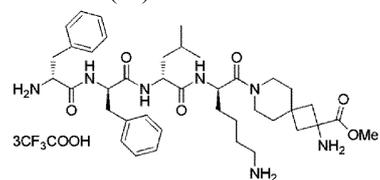
Метил-2-[[[(1S)-1-фенилэтил]амино]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (2G) (300 мг, 1,0 ммоль) растворяли в дихлорметане (10 мл) при комнатной температуре и добавляли промежуточное соединение 1 (753 мг, 1,0 ммоль). При перемешивании при комнатной температуре последовательно добавляли 1-гидроксibenзотриазол (135 мг, 1,0 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (0,23 г, 1,2 ммоль) и позволяли системе реагировать в течение 15 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1). Элюент собирали и выпаривали при пониженном давлении с получением метил-7-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпроаноил]амино]-3-фенилпроаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-2-[[[(1S)-1-фенилэтил]амино]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилата (2H) в виде белого вспененного твердого вещества (710 мг, выход 69%).

Стадия 8. Метил-2-амино-7-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбонил-амино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпроаноил]амино]-3-фенилпроаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (2I)



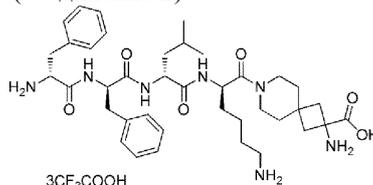
Метил-7-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-фенилпроаноил]амино]-3-фенилпроаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-2-[[[(1S)-1-фенилэтил]амино]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (2H) (700 мг, 0,7 ммоль) растворяли в этилацетате (10 мл) при комнатной температуре и в реакционный раствор добавляли палладий на угле (0,1 г, 20% по весу). Атмосферу заменяли водородом 3 раза и реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 5 ч под атмосферой водорода (баллон). Реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали фильтрат досуха. Остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением метил-2-амино-7-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпроаноил]амино]-3-фенилпроаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилата (2I) в виде белого вспененного твердого вещества (370 мг, выход 60%).

Стадия 9. Метил-2-амино-7-[(2R)-6-амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпроаноил]амино]-3-фенилпроаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат; 2,2,2-трифторуксусная кислота (2J)



Метил-2-амино-7-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат. Метил (370 мг, 0,4 ммоль) растворяли в дихлорметане (3 мл) при комнатной температуре и охлаждали до 0°C. Добавляли трифторуксусную кислоту (1 мл), повышали температуру до комнатной температуры и позволяли системе реагировать в течение 3 ч. Реакционный раствор выпаривали досуха при пониженном давлении с получением неочищенного 2-амино-7-[(2R)-6-амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилата; три-трифторуксусной кислоты (2J) в виде желтой маслянистой жидкости (305 мг, выход 72%).

Стадия 10. 2-Амино-7-[(2R)-6-амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоновая кислота; три-трифторуксусная кислота (соединение 2)



Гидроксид натрия (50 мг, 1,25 ммоль) растворяли в воде (2 мл) при комнатной температуре и добавляли неочищенный 2-амино-7-[(2R)-6-амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат; три-трифторуксусную кислоту (2J) (305 мг, 0,288 ммоль). Системе позволяли реагировать в течение 5 ч при комнатной температуре. Реакционный раствор выпаривали досуха при пониженном давлении и разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150 ммоль) [[[(2R)-2-мет; подвижная фаза: А - АСN и В - Н₂O; изократический режим: 65% А; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла]. Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении с удалением большей части растворителя и лиофилизировали с получением 2-амино-7-[(2R)-6-амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-карбоновой кислоты; три-трифторуксусной кислоты (соединения 2) (92 мг, выход 31%).

МС m/z (ИЭР): 360,8 [M+2H]⁺/2;

¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,44-7,18 (м, 10H), 4,65 (т, 1H), 4,33-4,18 (м, 2H), 3,58 (ш, 2H), 3,52-3,41 (м, 1H), 3,41-3,29 (м, 1H), 3,17 (д, 2H), 3,10-2,90 (м, 4H), 2,70-2,46 (м, 2H), 2,32-2,18 (м, 2H), 2,05-1,28 (м, 14H), 0,98-0,84 (м, 6H).

Соединение 2-1 (соединение 2 в свободной форме).

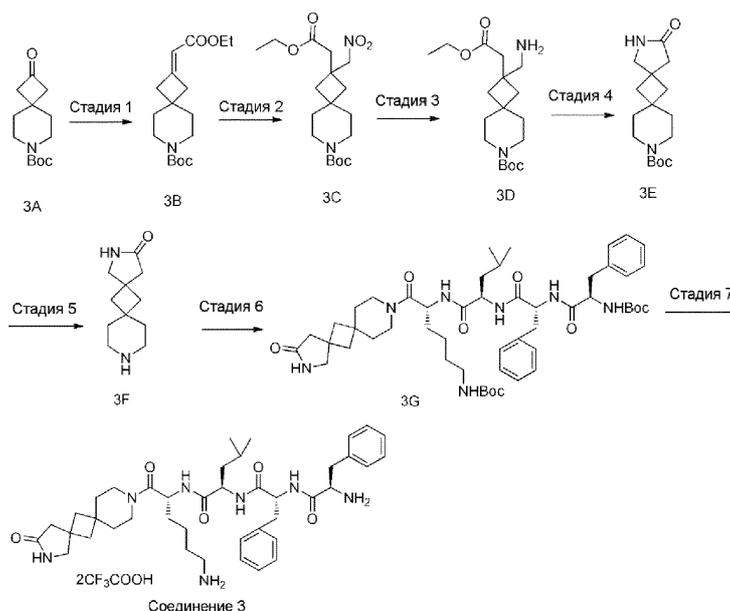
Соединение 2 (7,3 г, 6,88 ммоль) пропускали через ионообменную смолу (300 мл) (элюировали водой с ~3,3% аммиака), полученный раствор элюата выпаривали при пониженном давлении (выпаривали при пониженном давлении до 100 мл при 60°C) и затем лиофилизировали с получением соединения 2-1 в виде белого твердого вещества (4,5 г, выход 90,8%).

МС m/z = 720,5 [M+2H]⁺;

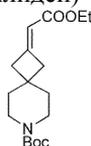
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,34-7,22 (м, 6H), 7,18-7,06 (м, 4H), 4,78-4,72 (м, 1H), 4,55 (т, 1H), 4,25 (т, 1H), 3,65-3,46 (м, 3H), 3,45-3,25 (м, 2H), 3,09-2,97 (м, 1H), 2,95-2,84 (м, 3H), 2,85-2,73 (м, 2H), 2,51-2,33 (м, 2H), 2,00-1,83 (м, 2H), 1,82-1,25 (м, 13H), 0,96-0,78 (м, 6H).

Пример 2.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-(2-оксо-3,10-диазадиспиро[4.1.5⁷].1⁵]}тридекан-10-карбонил)пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусная кислота (соединение 3)

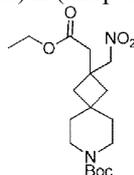


Стадия 1. трет-Бутил-2-(2-этокси-2-оксоэтилиден)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (3B)



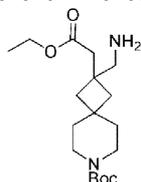
Тетрагидрофуран (50 мл) добавляли в реакционную колбу и под защитой азота добавляли гидрид натрия (1,3 г, 54,2 ммоль). Смесь охлаждали до 0°C в водяной бане со льдом и по каплям медленно добавляли триэтилфосфоноацетат (6,9 г, 31 ммоль). После добавления реакцию проводили при 0°C в течение 20 мин. Ее охлаждали до -5-0°C и по каплям медленно добавляли трет-бутил-2-оксо-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (3A) (5 г, 20,9 ммоль) в тетрагидрофуране (20 мл). После добавления температуру повышали до комнатной температуры и продолжали реакцию в течение 1 ч. Добавляли насыщенный водный раствор хлорида натрия (50 мл) и экстрагировали смесь этилацетатом (2×50 мл). Органические слои объединяли и органические слои сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного трет-бутил-2-(2-этокси-2-оксоэтилиден)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (3B) в виде светло-желтой маслянистой жидкости (6,0 г, выход 92,8%), которую использовали непосредственно в следующей стадии.

Стадия 2. трет-Бутил-2-(2-этокси-2-оксоэтил)-2-(нитрометил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (3C)



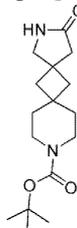
В реакционную колбу добавляли трет-бутил-2-(2-этокси-2-оксоэтилиден)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (3B) и добавляли тетрагидрофуран (60 мл). Его полностью растворяли при комнатной температуре при перемешивании, после чего добавляли нитрометан (6,0 г, 98,3 ммоль) и фторид тетрабутиламмония (7,85 г, 30 ммоль). После добавления реакцию нагревали с обратным холодильником в течение 5 ч. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, добавляли этилацетат (150 мл) и для промывки и разделения использовали насыщенный водный раствор хлорида натрия (1×100 мл). Органическую фазу сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали досуха при пониженном давлении. Остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 10:1) с получением трет-бутил-2-(2-этокси-2-оксоэтил)-2-(нитрометил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (3C) в виде бесцветной прозрачной маслянистой жидкости (6,5 г, выход 90%).

Стадия 3. трет-Бутил-2-(аминометил)-2-(2-этокси-2-оксоэтил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (3D)



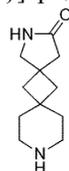
В реакционную колбу добавляли трет-бутил-2-(2-этокси-2-оксоэтил)-2-(нитрометил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (3C) (6,5 г, 18 ммоль), затем добавляли этанол (75 мл) и воду (25 мл), порошок железа (4,9 г, 88 ммоль) и хлорид аммония (4,7 г, 88,00 ммоль) и кипятили реакцию с обратным холодильником в течение 5 ч. Температуру снижали до комнатной температуры и выпаривали реакционную систему до 20 мл. Добавляли воду (30 мл), доводили pH до показателя больше 10 водным раствором аммиака и экстрагировали дихлорметаном (2×50 мл). Органические фазы объединяли и органические фазы выпаривали досуха при пониженном давлении с получением трет-бутил-2-(аминометил)-2-(2-этокси-2-оксоэтил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (50 мл) в виде светло-желтой маслянистой жидкости (5,1 г, выход 85%).

Стадия 4. трет-Бутил-2-оксо-3,10-дiazаспиро-[4.1.5⁷.1⁵]тридекан-10-карбоксилат (3E)



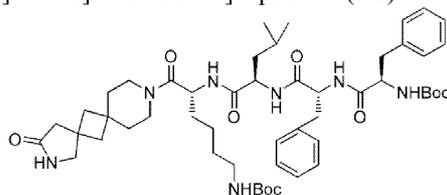
В реакционную колбу добавляли трет-бутил-2-(аминометил)-2-(2-этокси-2-оксоэтил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (3D) (3 г, 8,8 ммоль), добавляли водный раствор гидроксида натрия (400 мг, 10 ммоль) (30 мл) и позволяли системе реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор фильтровали с получением трет-бутил-2-оксо-3,10-дiazаспиро[4.1.5⁷.1⁵]тридекан-10-карбоксилата (3E) в виде белого твердого вещества (2,10 г, выход 81%).

Стадия 5. 3,10-Дiazаспиро[4.1.5⁷.1⁵]тридекан-2-он (3F)



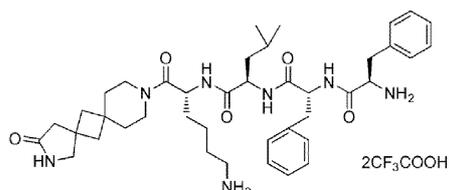
трет-Бутил-2-оксо-3,10-дiazаспиро[4.1.5⁷.1⁵]тридекан-10-карбоксилат (3E) (1 г, 3,4 ммоль) растворяли в дихлорметане (9 мл) и добавляли трифторуксусную кислоту (3 мл). Реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 5 ч до полного превращения. Реакционный раствор выпаривали досуха при пониженном давлении, добавляли воду (20 мл) и доводили систему до pH >10 2 М водным раствором гидроксида натрия. Смесь экстрагировали дихлорметаном (2×20 мл) и подвергали процессу разделения жидкой фазы. Органические фазы объединяли и выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного 3,10-дiazаспиро[4.1.5⁷.1⁵]тридекан-2-она (3F) в виде желтой маслянистой жидкости (0,6 г, выход 85%).

Стадия 6. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбонил)амино]-1-(2-оксо-3,10-дiazаспиро[4.1.5⁷.1⁵]тридекан-10-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (3G)



В реакционную колбу под защитой азотом добавляли дихлорметан (30 мл) и добавляли промежуточное соединение 1 (2,25 г, 2,98 ммоль), неочищенный 3,10-дiazаспиро[4.1.5⁷.1⁵]тридекан-2-он (3F) (0,6 г, 2,88 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол (0,39 г, 2,89 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (0,83 г, 4,33 ммоль). Системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 15 ч. Затем добавляли воду (20 мл), экстрагировали этилацетатом (3×30 мл) и разделяли слои и объединяли органические фазы. Органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении. Остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 20:1) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбонил)амино]-1-(2-оксо-3,10-дiazаспиро[4.1.5⁷.1⁵]тридекан-10-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (3G) в виде белого вспененного твердого вещества (1,77 г, выход 73,2%).

Стадия 7. (2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-(2-оксо-3,10-дiazаспиро[4.1.5⁷.1⁵]тридекан-10-карбонил)пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 3)



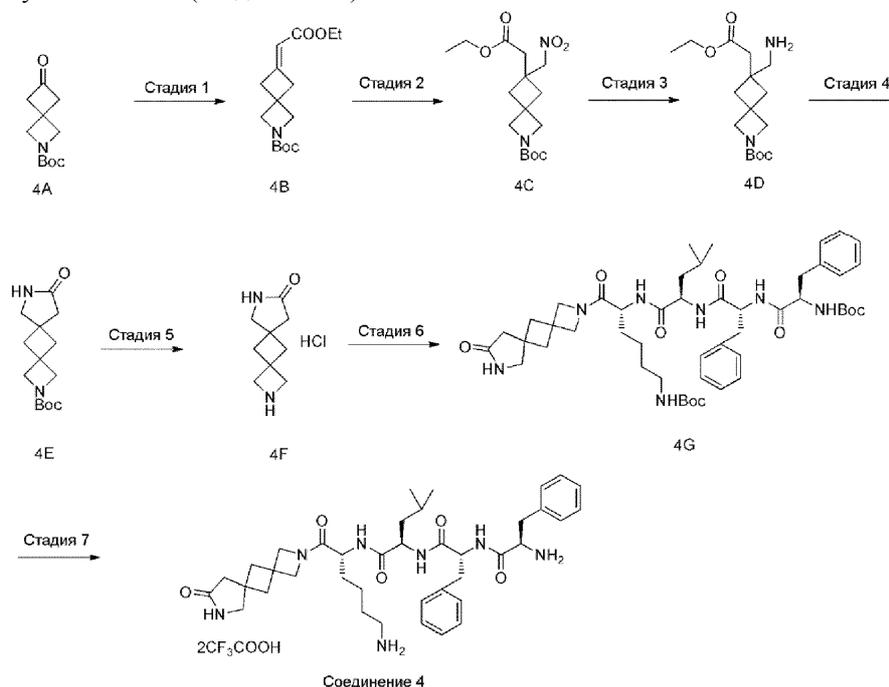
трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(2-оксо-3,10-дiazаспиро[4.1.5⁷].1⁵]]тридекан-10-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]-амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (3G) (0,90 г, 1 ммоль) и дихлорметан (21 мл) добавляли в реакционную колбу под защитой азотом и при перемешивании добавляли трифторуксусную кислоту (7 мл). Реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор выпаривали досуха при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-(2-оксо-3,10-дiazаспиро[4.1.5⁷].1⁵]]тридекан-10-карбонил)пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусной кислоты (соединение 3) в виде белого твердого вещества (0,98 г, выход 54%).

МС m/z (ИЭР): 365,9 [M+2H]⁺/2;

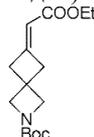
¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,86-8,67 (м, 1H), 8,40-8,23 (м, 1H), 8,14-8,01 (м, 3H), 7,84-7,72 (м, 2H), 7,52-7,42 (м, 1H), 7,37-7,15 (м, 10H), 4,76-3,94 (м, 4H), 3,59-2,65 (м, 12H), 2,29-2,15 (м, 2H), 1,93-1,19 (м, 17H), 0,88 (дд, 6H).

Пример 3.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-(9-оксо-2,8-дiazадиспиро-[3.1.4⁶].1⁴)]ундекан-2-карбонил)пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 4)



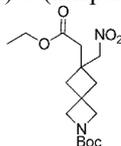
Стадия 1. трет-Бутил-6-(2-этокси-2-оксоэтилиден)-2-азаспиро[3.3]гептан-2-карбоксилат (4B)



В реакционную колбу добавляли тетрагидрофуран (50 мл) и добавляли гидрид натрия (2,5 г, 59,2 ммоль). Смесь охлаждали до 0°C в водяной бане со льдом и по каплям медленно добавляли триэтилфосфоноацетат (7,96 г, 35,5 ммоль). Реакции позволяли идти при 0°C в течение 20 мин после добавления. Затем смесь охлаждали до -5-0°C и по каплям медленно добавляли трет-бутил-6-оксо-2-

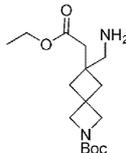
азаспиро[3.3]гептан-2-карбоксилат (4А) (5 г, 23,7 ммоль) в тетрагидрофуране (20 мл). После добавления реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем в реакционный раствор добавляли насыщенный водный раствор хлорида натрия (50 мл) и экстрагировали смесь этилацетатом (2×50 мл), после чего смесь подвергали процессу разделения жидкой фазы. Органические фазы объединяли. Органическую фазу сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного трет-бутил-6-(2-этокси-2-оксоэтилен)-2-азаспиро[3.3]гептан-2-карбоксилата (4В) в виде желтой маслянистой жидкости (5,5 г, выход 83%), которую использовали непосредственно в следующей стадии.

Стадия 2. трет-Бутил-6-(2-этокси-2-оксоэтил)-6-(нитрометил)-2-азаспиро[3.3]гептан-2-карбоксилат (4С)



Неочищенный трет-бутил-6-(2-этокси-2-оксоэтилен)-2-азаспиро[3.3]гептан-2-карбоксилат (4В) добавляли в реакционную колбу и добавляли тетрагидрофуран (60 мл). Систему перемешивали до полного растворения при комнатной температуре, затем добавляли нитрометан (6,0 г, 98,3 ммоль) и фторид тетрабутиламония (7,85 г, 30 ммоль). После завершения добавления реакцию нагревали с обратным холодильником в течение 5 ч. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры, добавляли этилацетат (150 мл) и промывали смесь насыщенным водным раствором хлорида натрия (100 мл), после чего смесь подвергали процессу разделения жидкой фазы. Органическую фазу сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении. Остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 4:1) с получением трет-бутил-6-(2-этокси-2-оксоэтил)-6-(нитрометил)-2-азаспиро[3.3]гептан-2-карбоксилата (4С) в виде бесцветной прозрачной маслянистой жидкости (5,1 г, выход 76%).

Стадия 3. трет-Бутил-6-(аминометил)-6-(2-этокси-2-оксоэтил)-2-азаспиро[3.3]гептан-2-карбоксилат (4D)



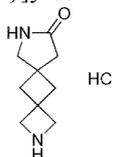
В реакционную колбу добавляли трет-бутил-6-(2-этокси-2-оксоэтил)-6-(нитрометил)-2-азаспиро[3.3]гептан-2-карбоксилат (4С) (5,1 г, 15 ммоль), добавляли этанол (75 мл), воду (25 мл), порошок железа (4,2 г, 74 ммоль) и хлорид аммония (4,0 г, 74 ммоль) и нагревали реакцию с обратным холодильником в течение 5 ч. Температуру снижали до комнатной температуры и систему реакции выпаривали до приблизительно 20 мл. Добавляли воду (30 мл), затем pH доводили больше чем до 10 аммиаком, экстрагировали дихлорметаном (2×50 мл) и подвергали смесь процессу разделения жидкой фазы. Органические фазы объединяли и органические фазы выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного трет-бутил-6-(аминометил)-6-(2-этокси-2-оксоэтил)-2-азаспиро[3.3]гептан-2-карбоксилата (4D) (4,6 г, выход 99%), который использовали непосредственно в следующей стадии.

Стадия 4. трет-Бутил-9-оксо-2,8-дизадиаспиро-[3.1.4⁶.1⁴]ундекан-2-карбоксилат (4Е)



Неочищенный трет-бутил-6-(аминометил)-6-(2-этокси-2-оксоэтил)-2-азаспиро[3.3]гептан-2-карбоксилат (4D) (4,6 г, 15 ммоль) добавляли в реакционную колбу. Добавляли водный раствор гидроксида натрия (600 мг, 15 ммоль) (45 мл) и смесь подвергали реакции при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор фильтровали с получением трет-бутил-9-оксо-2,8-дизадиаспиро[3.1.4⁶.1⁴]ундекан-2-карбоксилата (4Е) в виде белого твердого вещества (2,90 г, выход 74%).

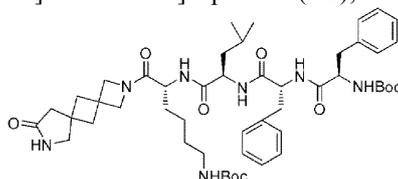
Стадия 5. 2,8-Дизадиаспиро[3.1.4⁶.1⁴]ундекан-9-он; гидрохлорид (4F)



трет-Бутил-9-оксо-2,8-дизадиаспиро[3.1.4⁶.1⁴]ундекан-2-карбоксилат (4Е) (2 г, 7,5 ммоль) растворяли в растворе 4н. НСl-изопропанола (9 мл) и позволяли системе реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали досуха при пониженном давлении с получением

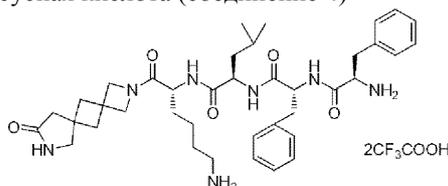
неочищенного 2,8-дiazаспиро[3.1.4⁶.1⁴]ундекан-9-она; гидрохлорида (4F) в виде белого твердого вещества (0,95 г, выход 62%), который использовали непосредственно в следующей стадии.

Стадия 6. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(9-оксо-2,8-дiazадиспиро[3.1.4⁶.1⁴]ундекан-2-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (4G);



В реакционную колбу под защитой азотом добавляли дихлорметан (30 мл) и добавляли промежуточное соединение 1 (2,25 г, 2,98 ммоль), 2,8-дiazаспиро[3.1.4⁶.1⁴]ундекан-9-он; гидрохлорид (4F) (0,6 г, 3,0 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (0,39 г, 2,89 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (0,83 г, 4,33 ммоль). Реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 15 ч. Затем добавляли воду (20 мл) и экстрагировали смесь этилацетатом (3×30 мл), после чего смесь подвергали процессу разделения жидкой фазы. Органические фазы объединяли и сушили органические фазы над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении. Остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 10:1) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(9-оксо-2,8-дiazаспиро[3.1.4⁶.1⁴]ундекан-2-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (4G) в виде белого вспененного твердого вещества (1,9 г, выход 70%).

Стадия 7. (2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-(9-оксо-2,8-дiazадиспиро[3.1.4⁶.1⁴]ундекан-2-карбонил)пентил]-2-[(2R)-2-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 4)



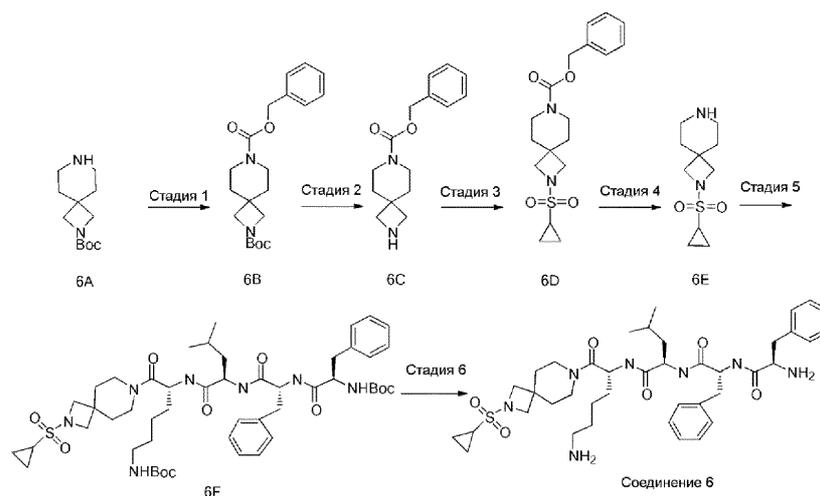
трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(9-оксо-2,8-дiazаспиро[3.1.4⁶.1⁴]ундекан-2-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (4G) (1,7 г, 1,9 ммоль) и дихлорметан (21 мл) добавляли в реакционную колбу под защитой азотом. При перемешивании добавляли трифторуксусную кислоту (7 мл) и реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор выпаривали досуха при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали препаративной хроматографией (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - АСН и В - Н₂О; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-(9-оксо-2,8-дiazаспиро[3.1.4⁶.1⁴]ундекан-2-карбонил)пентил]-2-[(2R)-2-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусной кислоты (соединение 4) в виде белого твердого вещества (0,7 г, выход 40%).

МС m/z (ПЭР): 351,8 [M+2H]⁺/2;

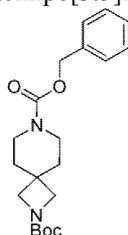
¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 8,76 (д, 1H), 8,32 (д, 1H), 8,11-7,97 (м, 4H), 7,85-7,69 (м, 3H), 7,50 (с, 1H), 7,33-7,18 (м, 10H), 4,74-3,74 (м, 8H), 3,24-2,63 (м, 8H), 2,27-2,05 (м, 6H), 1,71-1,17 (м, 9H), 0,89 (дд, 6H).

Пример 4.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-(2-циклопропилсульфонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-2-[(2R)-2-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид (соединение 6)



Стадия 1. 7-Бензил-2-трет-бутил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2,7-дикарбоксилат (6B)

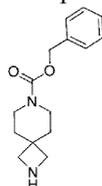


Триэтиламин (0,15 мл, 1,1 ммоль) по каплям добавляли в трет-бутил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (6A) (0,23 г, 1 ммоль) в растворе тетрагидрофурана (5 мл) в одногорлом сосуде объемом 50 мл при 0°C. После добавления по каплям добавляли бензилхлорформиат (340 мг, 2 ммоль) и перемешивали в течение 10 мин. Температуру повышали до комнатной температуры и продолжали перемешивание в течение 1 ч. Реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением 7-бензил-2-трет-бутил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2,7-дикарбоксилата (6B) в виде бесцветного маслянистого продукта (362 мг, выход 99%).

МС $m/z = 383,2 [M+Na]^+$;

1H -ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 7,34-7,32 (м, 5H), 5,12 (с, 2H), 3,64 (с, 4H), 3,43 (дд, 4H), 1,77-1,61 (м, 4H), 1,44 (с, 9H).

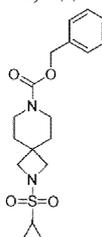
Стадия 2. Бензил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (6C)



7-Бензил-2-трет-бутил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2,7-дикарбоксилат (6B) (0,36 г, 1 ммоль) и дихлорметан (7 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (1 мл). После добавления реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор непосредственно выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного бензил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (6C) в виде желтой маслянистой жидкости (260 мг, выход 100%), которую использовали непосредственно в следующей реакции.

МС $m/z = 261,2 [M+H]^+$;

Стадия 3. Бензил-2-циклопропилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (6D)



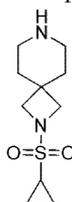
Неочищенный бензил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (6C) (260 мг, 1 ммоль), триэтиламин (200 мг, 2 ммоль) и дихлорметан (7 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл. Раствор охлаждали до 0°C в ледяной бане и по каплям добавляли циклопропилсульфонилхлорид (170 мг, 1,2 ммоль).

После добавления температуру повышали до комнатной температуры в течение 4 ч. Затем реакцию останавливали насыщенным бикарбонатом натрия (10 мл), экстрагировали этилацетатом (3×5 мл) и объединяли органические фазы. Органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении. Остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 4:1) с получением соединения бензил-2-циклопропилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (6D) в виде белого твердого вещества (360 мг, выход 99%).

МС $m/z = 365,2 [M+H]^+$;

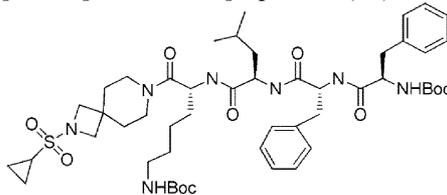
$^1\text{H-NMR}$ (400 МГц, CDCl_3) δ 7,43-7,28 (м, 5H), 5,12 (с, 2H), 3,70 (с, 4H), 3,53-3,36 (м, 4H), 2,41-2,22 (м, 1H), 1,85-1,69 (м, 4H), 1,19-1,09 (м, 2H), 1,04-0,93 (м, 2H).

Стадия 4. 2-Циклопропилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан (6E)



Бензил-2-циклопропилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (6D) (360 мг, 0,99 ммоль), палладий на угле (72 мг, 20 вес.%) и этилацетат (10 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл. Атмосферу заменяли водородом 3 раза и реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 2 ч под атмосферой водорода (баллон). Реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением 2-циклопропилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонана (6E) в виде светло-желтого твердого вещества (210 мг, выход 92%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 5. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(2-циклопропилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (6F)



2-Циклопропилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан (6E) (161 мг, 0,7 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодимида (124 мг, 0,8 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол (108 мг, 0,8 ммоль), промежуточное соединение 1 (500 мг, 0,7 ммоль) и дихлорметан (30 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и позволяли системе реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 1:2) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(2-циклопропилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (6F) в виде белого твердого вещества (610 мг, выход 95%).

Стадия 6. (2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-(2-циклопропилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамида (соединение 6)



трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(2-циклопропилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (6F) (300 мг, 0,31 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и позволяли системе реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H_2O ; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление:

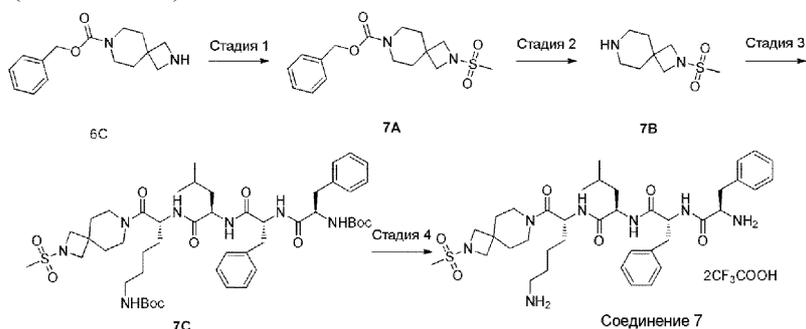
1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением белого порошкообразного соединения. Затем ионообменную смолу (элюированную водой с 3,3% аммиака) использовали для концентрирования полученного элюированного раствора при пониженном давлении (концентрировали при пониженном давлении до 25 мл при 60°C) и затем лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-(2-циклопропилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-2-[[2R)-2-[[2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаамида (соединения 6) в виде белого твердого вещества (153 мг, выход 63%).

МС $m/z = 383,8 [M+2H]^+/2$;

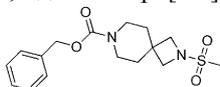
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,40-7,24 (м, 6H), 7,16 (дд, 4H), 4,72-4,73 (м, 1H), 4,58-4,52 (м, 1H), 4,25 (т, 1H), 3,84 (дд, 4H), 3,67-3,55 (м, 3H), 3,46-3,45 (м, 1H), 3,35-3,34 (м, 1H), 3,03 (дд, 1H), 2,91 (дд, 3H), 2,82 (д, 2H), 2,69 (ддд, 1H), 1,85-1,86 (м, 3H), 1,670-1,66 (м, 5H), 1,51-1,49 (м, 3H), 1,38-1,36 (м, 2H), 1,23-1,06 (м, 4H), 0,88 (дд, 6H).

Пример 5.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-(2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-2-[[2R)-2-[[2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаамида; ди-трифторацетат (соединение 7)



Стадия 1. Бензил-2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (7A)

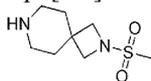


Бензил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (6C) (330 мг, 1,3 ммоль), триэтиламин (263 мг, 2,6 ммоль) и дихлорметан (20 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и перемешивали до растворения. После охлаждения до -10°C по каплям добавляли метансульфонилхлорид (164 мг, 1,43 ммоль) и реакции позволяли идти в течение 4 ч. Затем температуру повышали до комнатной температуры. Реакционный раствор промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (60 мл), 3н. водным раствором соляной кислоты (60 мл) и подвергали смесь процессу разделения жидкой фазы. Органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении. Остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 1:1) с получением бензил-2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (7A) в виде светло-желтого маслянистого вещества (236 мг, выход 54,6%).

МС $m/z = 339,0 [M+H]^+$;

¹H-ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,41-7,28 (м, 5H), 5,12 (с, 2H), 3,68 (с, 4H), 3,50-3,38 (м, 4H), 2,86 (с, 3H), 1,83-1,70 (м, 4H).

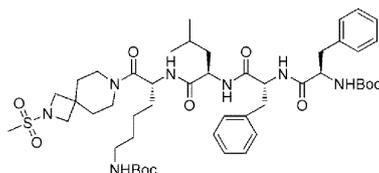
Стадия 2. 2-Метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан (7B)



Бензил 2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (7A) (236 мг, 0,7 ммоль), палладий на угле (40 мг, 20 вес.%) и метанол (20 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл. Атмосферу заменяли водородом 3 раза и реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 8 ч под атмосферой водорода (баллон). Затем реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного 2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонана (7B) в виде светло-желтого твердого вещества (133 мг, выход 100%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

МС $m/z = 205,1 [M+1]^+$.

Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[2R)-2-[[2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаамида; ди-трифторацетат (соединение 7C)



Неочищенный 2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан (7B) (133 мг, 0,65 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (374 мг, 1,95 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол (96,6 мг, 0,72 ммоль), промежуточное соединение 1 (490 мг, 0,65 ммоль) и дихлорметан (30 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и позволяли системе реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 1:2) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбонил-амино)-1-(2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]-амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (7C) в виде светло-желтого твердого вещества (317 мг, выход 52%).

Стадия 4. (2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-(2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид (соединение 7)



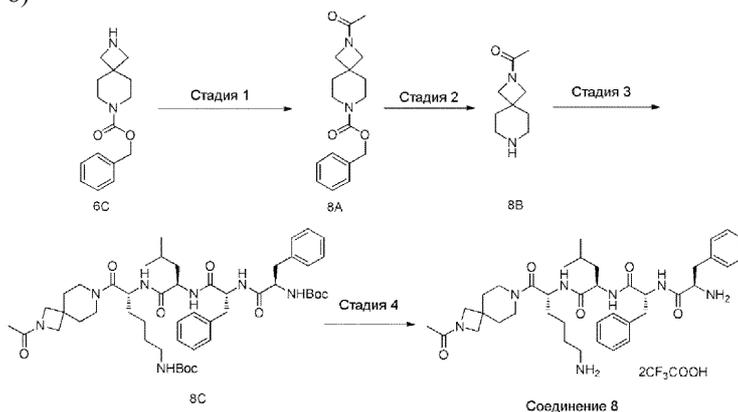
трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбонил-амино)-1-(2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (7C) (317 мг, 0,34 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и позволяли системе реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор собирали и выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части органического растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-(2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид (соединения 7) в виде белого порошка (217 мг, выход 66,5%).

МС $m/z = 370,8 [M+2H]^+/2$;

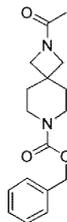
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,43-7,27 (м, 6H), 7,25-7,20 (м, 4H), 4,67-4,62 (м, 2H), 4,33-4,20 (м, 2H), 3,87-3,71 (м, 4H), 3,69-3,56 (м, 2H), 3,53-3,41 (м, 1H), 3,40-3,29 (м, 1H), 3,23-3,12 (м, 2H), 3,11-3,07 (м, 3H), 3,07-2,91 (м, 4H), 1,94-1,78 (м, 3H), 1,78-1,60 (м, 5H), 1,58-1,48 (м, 3H), 1,46-1,28 (м, 2H), 0,98-0,82 (м, 6H).

Пример 6.

(2R)-N-[(1R)-1-(2-Ацетил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)-5-аминопентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 8)

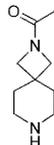


Стадия 1. Бензил-2-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (8А)



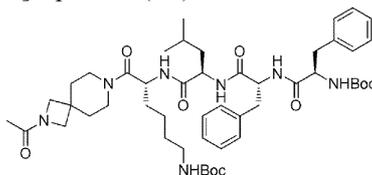
Бензил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (6С) (520 мг, 2,0 ммоль) растворяли в дихлорметане (5 мл) под защитой азотом в реакционной колбе объемом 50 мл и при перемешивании добавляли триэтиламин (607 мг, 6,0 ммоль). Затем температуру снижали до -20°C и по каплям добавляли ацетилхлорид (314 мг, 4,0 ммоль). После добавления температуру естественным путем повышали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. Затем к реакции добавляли 0,5 М разбавленный водный раствор соляной кислоты (20 мл) и разделяли слои при перемешивании, после чего смесь подвергали процессу разделения жидкой фазы. Водный слой экстрагировали дихлорметаном (2×20 мл) и объединяли органические фазы. Органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении. Остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (чистый этилацетат) с получением соединения бензил-2-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (8А) в виде светло-желтой маслянистой жидкости (440 мг, выход 72,8%).

Стадия 2. 1-(2,7-Дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)этанон (8В)



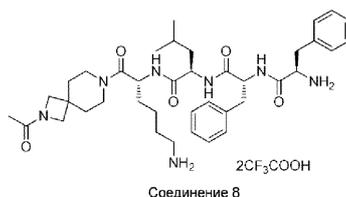
Бензил-2-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (8А) (440 мг, 1,46 ммоль) добавляли к смешанному раствору этилацетата (5 мл) и метанола (2 мл) в реакционной колбе объемом 50 мл. Затем добавляли палладий на угле (80 мг, 20% веса) и перемешивали систему под атмосферой водорода (баллон) при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционный раствор затем фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного 1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)этанона (8В) в виде светло-желтой маслянистой жидкости (250 мг, выход 99%), которую использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-2-[[[(1R)-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-(2-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамат (8С)



Неочищенный 1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)этанон (8В) (200 мг, 1,19 ммоль) в этилацетате (10 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл под защитой азотом. Раствор охлаждали до 0°C в ледяной бане, затем добавляли промежуточное соединение 1 (867 мг, 1,15 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (331 мг, 1,73 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (186 мг, 1,38 ммоль). После добавления реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 1,5 ч. После этого в реакционный раствор добавляли 1н. водный раствор соляной кислоты (15 мл), смесь перемешивали и затем подвергали процессу разделения жидкой фазы. К органической фазе добавляли насыщенный водный раствор карбоната натрия (15 мл), перемешивали смесь в течение 30 мин и затем подвергали процессу разделения жидкой фазы. Органическую фазу промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (15 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного трет-бутил-N-[(1R)-2-[[[(1R)-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-(2-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамата (8С) в виде светло-желтого вспененного твердого вещества (1,04 г, выход 99%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 4. (2R)-N-[(1R)-1-(2-Ацетил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)-5-аминопентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 8)



Неочищенный трет-бутил-N-[(1R)-2-[[[(1R)-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-(2-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамат (8С) (1,04 г, 1,15 ммоль) растворяли в дихлорметане (7,5 мл) и добавляли трифторуксусную кислоту (3,5 мл). Систему перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении. После этого остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - АСN и В - Н₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла), полученный раствор собирали и выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части органического растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-1-(2-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)-5-аминопентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]-амино]-4-метилпентаноида; ди-трифторуксусной кислоты (соединения 8) в виде белого твердого вещества (460 мг, выход в двух стадиях 42,9%).

МС m/z (ИЭР): 352,8 [M+2H]⁺/2;

¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,49-7,00 (м, 10H), 4,66-4,49 (м, 2H), 4,30-3,93 (м, 4H), 3,79-3,54 (м, 4H), 3,52-3,25 (м, 2H), 3,22-2,90 (м, 6H), 1,92-1,27 (м, 16H), 1,02-0,75 (м, 6H).

Соединение 8-1.

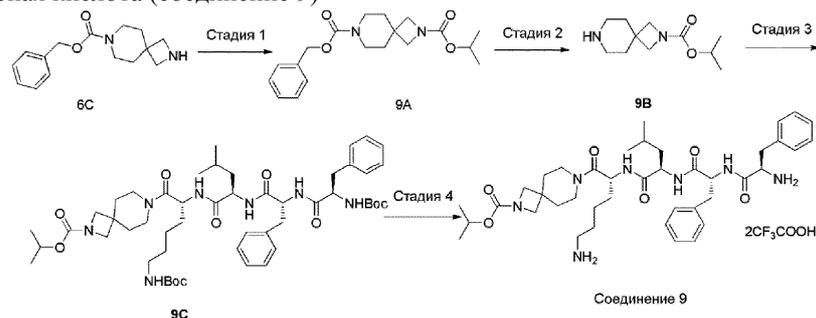
Соединение 8 (1,0 г, 1,07 ммоль) пропускали через ионообменную смолу (60 мл) (элюировали водой с ~3,3% аммиака) и полученный раствор элюата выпаривали при пониженном давлении (выпаривали при пониженном давлении до 100 мл при 60°C), а затем лиофилизировали с получением соединения 8-1 в виде свободной формы соединения 8 в виде белого твердого вещества (451 мг, выход 60,0%).

МС m/z (ИЭР): 352,8 [M+2H]⁺/2;

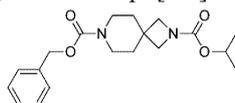
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,45-7,32 (м, 6H), 7,23 (дд, 4H), 4,85-4,75 (м, 1H), 4,64 (т, 1H), 4,35 (т, 1H), 4,07 (д, 2H), 3,83 (д, 2H), 3,74-3,63 (м, 3H), 3,62-3,50 (м, 1H), 3,50-3,39 (м, 1H), 3,17-2,65 (м, 6H), 2,01-1,66 (м, 9H), 1,65-1,30 (м, 7H), 0,96 (дд, 6H).

Пример 7.

Изопропил-7-[(2R)-6-амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат; ди-трифторуксусная кислота (соединение 9)



Стадия 1. О⁷-Бензил-О²-изопропил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2,7-дикарбоксилат (9А)



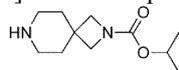
Бензил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (6С) (310 мг, 1,2 ммоль), триэтиламин (364 мг, 3,6 ммоль) и дихлорметан (20 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл и растворяли при перемешивании при комнатной температуре. Затем смесь охлаждали до -10°C и по каплям добавляли изопропилхлорформат (146 мг, 1,2 ммоль). После добавления температуру повышали до комнатной температуры и реакции позволяли идти в течение 4 ч. Реакционную систему последовательно промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (60 мл), 3 М водным раствором соляной кислоты (60 мл) и подвергали смесь процессу разделения жидкой фазы. Органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении. Остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат

(об.:об.) = 1:1) с получением соединения *O*⁷-бензил-*O*²-изопропил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2,7-дикарбоксилата (9А) в виде светло-желтой маслянистой жидкости (279 мг, выход 68%).

МС $m/z = 347,2 [M+H]^+$;

¹H-ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,38-7,30 (м, 5H), 5,12 (с, 2H), 4,95-4,80 (м, 1H), 3,68 (с, 4H), 3,47-3,39 (м, 4H), 1,75-1,68 (м, 4H), 1,23 (д, 6H).

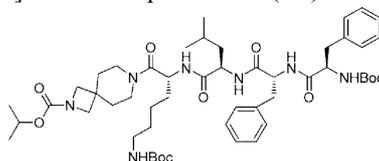
Стадия 2. Изопропил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (9В)



*O*⁷-Бензил-*O*²-изопропил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2,7-дикарбоксилат (9А) (260 мг, 0,75 ммоль), палладий на угле (52 мг, 20 вес.%) и метанол (20 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл. Атмосферу заменяли водородом 3 раза и смесь подвергали реакции при комнатной температуре в течение 8 ч под атмосферой водорода (баллон). Затем реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного изопропил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилата (9В) в виде светло-желтого твердого вещества (159 мг, выход 100%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

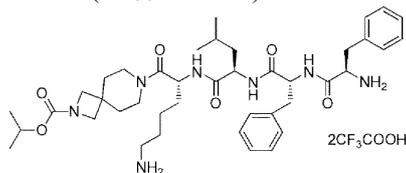
МС $m/z = 213,2 [M+1]$.

Стадия 3. Изопропил-7-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]-амино]гексаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (9С)



Неочищенный изопропил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (9В) (159 мг, 0,75 ммоль), гидрoхлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (374 мг, 1,95 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (110 мг, 0,81 ммоль), промежуточное соединение 1 (565 мг, 0,75 ммоль) и дихлорметан (30 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении. Остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 1:2) с получением изопропил-7-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]-амино]гексаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилата (9С) в виде светло-желтого твердого вещества (556 мг, выход 78%).

Стадия 4. Изопропил-7-[(2R)-6-амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат; ди-трифторуксусная кислота (соединение 9)



Изопропил-7-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (9С) (317 мг, 0,334 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением изопропил-7-[(2R)-6-амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилата; ди-трифторуксусной кислоты (соединения 9) в виде белого порошкообразного продукта (326 мг, выход 98%).

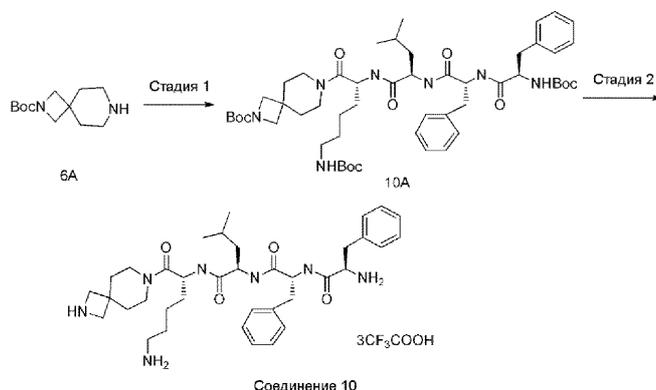
МС $m/z = 374,9 [M+2H]^+/2$;

¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,50-7,14 (м, 10H), 4,89-4,78 (м, 1H), 4,66 (т, 1H), 4,30 (т, 1H), 4,22 (т, 1H), 3,89-3,74 (м, 4H), 3,69-3,54 (м, 2H), 3,54-3,41 (м, 1H), 3,41-3,28 (м, 1H), 3,21-3,11 (м, 2H), 3,11-2,90 (м,

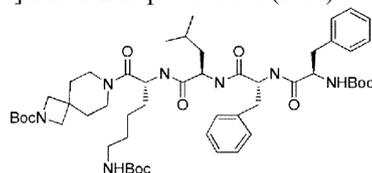
4H), 1,93-1,30 (м, 14H), 1,27 (д, 6H), 0,93 (к, 6H).

Пример 8.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамида; три-трифторуксусная кислота (соединение 10)



Стадия 1. трет-Бутил-7-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (10A)



трет-Бутил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (6A) (0,11 г, 0,5 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (115 мг, 0,6 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (81 мг, 0,6 ммоль), промежуточное соединение 1 (378 мг, 0,5 ммоль) и дихлорметан (30 мл) добавляли в одногорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении. Остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 1:2) с получением трет-бутил-7-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилата (10A) в виде белого твердого вещества (450 мг, выход 93%).

Стадия 2. (2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамида; три-трифторуксусная кислота (соединение 10)



трет-Бутил-7-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (10A) (450 мг, 0,468 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в одногорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, остаток очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамида; три-трифторуксусной кислоты (соединения 10) в виде белого порошкообразного продукта (358 мг, выход 76%).

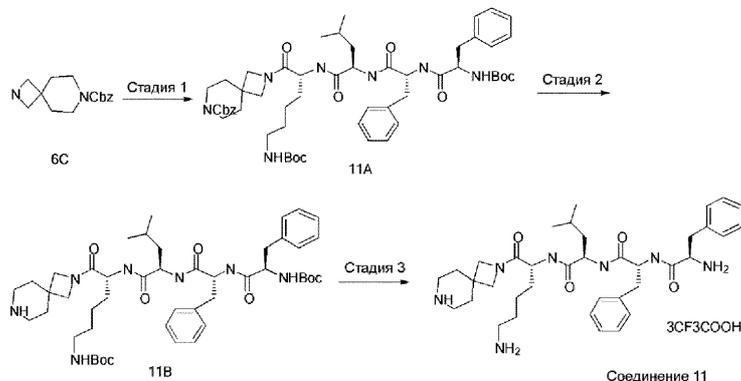
МС m/z = 331,8 [M-2CF₃COOH+2H]⁺/2;

¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,48-7,10 (м, 10H), 4,65-4,61 (м, 2H), 4,28-4,20 (м, 2H), 3,93 (д, 4H), 3,70-

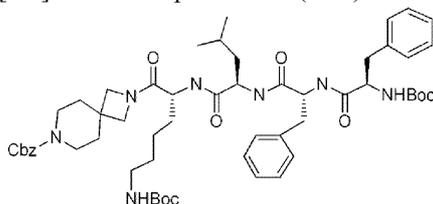
3,57 (м, 2H), 3,52-3,39 (м, 1H), 3,39-3,27 (м, 1H), 3,15 (д, 2H), 3,02-2,94 (м, 4H), 1,98-1,87 (м, 3H), 1,82-1,60 (м, 5H), 1,51-1,50 (м, 3H), 1,44-1,36 (м, 2H), 0,89 (дд, 6H).

Пример 9.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)пентил]-2-[[2R)-2-[[2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусная кислота (соединение 11)

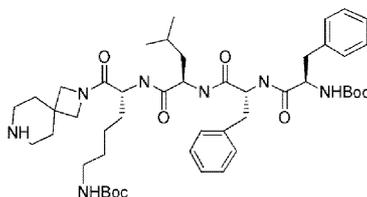


Стадия 1. Бензил-2-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[2R)-2-[[2R)-2-[[2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]-амино]гексаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (11A)



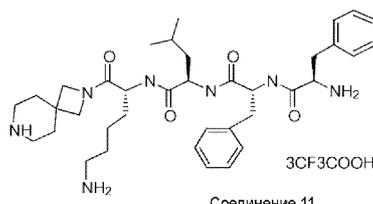
Бензил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (6C) (0,26 г, 1 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (230 мг, 1,2 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол (162 мг, 1,2 ммоль), промежуточное соединение 1 (0,75 г, 1 ммоль) и дихлорметан (30 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 1:2) с получением бензил-2-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[2R)-2-[[2R)-2-[[2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]-гексаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (11A) в виде белого твердого вещества (850 мг, выход 85%).

Стадия 2. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (11B)



Бензил-2-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[2R)-2-[[2R)-2-[[2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]-гексаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (11A) (850 мг, 0,85 ммоль), палладий на угле (170 мг, 20 вес.%) и метанол (20 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл. Атмосферу заменяли водородом 3 раза и реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 8 ч под атмосферой водорода (баллон). Затем реакционный раствор фильтровали через диатомит, а фильтрат выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[(1R)-5-(трет-бутоксикарбонил-амино)-1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (11B) в виде белого твердого вещества (580 мг, выход 79%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 3. (2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)пентил]-2-[[2R)-2-[[2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусная кислота (соединение 11)



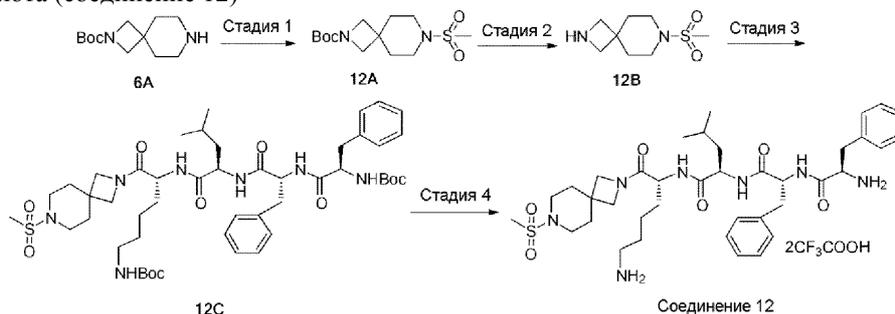
трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (11В) (0,5 г, 0,58 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр.диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамида; три-трифторуксусной кислоты (соединения 11) в виде белого порошкообразного продукта (380 мг, выход 66%).

МС m/z = 331,8 [M-2CF₃COOH+2H]⁺/2;

¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,43-7,13 (м, 10H), 4,61 (т, 1H), 4,28-4,06 (м, 5H), 3,84-3,74 (м, 2H), 3,19-3,14 (м, 6H), 2,99-2,95 (м, 4H), 2,09-1,94 (м, 4H), 1,79-1,61 (м, 4H), 1,55-1,31 (м, 5H), 0,89 (дд, 6H).

Пример 10.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-(7-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамида; ди-трифторуксусная кислота (соединение 12)



Стадия 1. трет-Бутил-7-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (12А)



трет-Бутил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (6А) (0,23 г, 1 ммоль), триэтиламин (210 мг, 2,0 ммоль) и дихлорметан (7 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и растворяли при перемешивании. После охлаждения до -10°C по каплям добавляли метансульфонилхлорид (140 мг, 1,2 ммоль) и системе позволяли реагировать в течение 4 ч. Затем температуру повышали до комнатной температуры, останавливали реакцию насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (10 мл) и экстрагировали этилацетатом (3×5 мл) и объединяли органические фазы. Органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении. Остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 4:1) с получением трет-бутил-7-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилата (12А) в виде светло-желтого маслянистого вещества (250 мг, выход 81%).

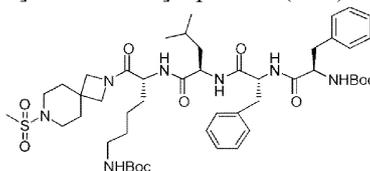
МС m/z = 327,2 [M+Na]⁺.

Стадия 2. 7-Метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан (12В)



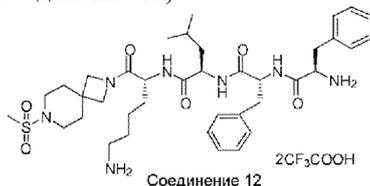
трет-Бутил-7-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (12А) (0,25 г, 0,81 ммоль) и дихлорметан (7 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и при комнатной температуре по каплям добавляли трифторуксусную кислоту (1 мл). После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор непосредственно выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного 7-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонана (12В) в виде светло-желтой маслянистой жидкости (165 мг, выход 100%), которую использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(7-метилсульфонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (12C)



Неочищенный 7-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан (12B) (165 мг, 0,75 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (192 мг, 1 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол (135 мг, 1 ммоль), промежуточное соединение 1 (610 мг, 0,81 ммоль) и дихлорметан (30 мл) добавляли в одногорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 1:2) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(7-метилсульфонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (12C) в виде белого твердого вещества (630 мг, выход 82,7%).

Стадия 4. (2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-(7-метилсульфонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)-пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 12)



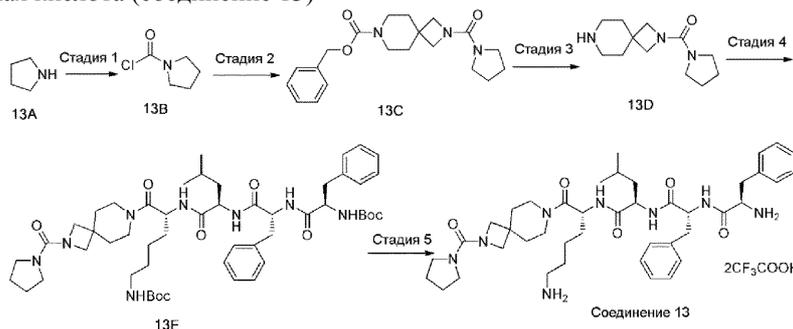
трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(7-метилсульфонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (12C) (630 мг, 0,34 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-(7-метилсульфонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусной кислоты (соединения 12) в виде белого порошка (410 мг, выход 63,2%).

МС $m/z = 370,8 [M+2H]^+/2$;

¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,43-7,15 (м, 10H), 4,61 (т, 1H), 4,33-3,96 (м, 5H), 3,79-3,69 (м, 2H), 3,25-3,13 (м, 7H), 3,02-2,93 (м, 6H), 1,91-1,86 (м, 3H), 1,70-1,64 (м, 3H), 1,56-1,31 (м, 5H), 1,25 (т, 2H), 0,89 (д, 6H).

Пример 11.

(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-Амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-N-[(1R)-5-амино-1-[2-(пирролидин-1-карбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 13)



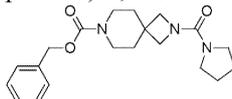
Стадия 1. Пирролидин-1-карбонилхлорид (13B)



NaHCO₃ (5,04 г, 60 ммоль), трифосген (5,94 г, 20 ммоль) и дихлорметан (10 мл) добавляли в одногорлую колбу объемом 50 мл. Реакционный раствор охлаждали до 10°C и затем по каплям медленно добавляли пирролидин (2,16 г, 30,4 ммоль). После добавления температуру обратно повышали до комнатной температуры и оставляли на ночь для реакции. Реакционный раствор фильтровали и фильтрат выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир: этилацетат (об.:об.) = 3:1) с получением пирролидин-1-карбонилхлорида (13B) в виде бесцветного маслянистого вещества (2,07 г, 51,65% выход).

¹H-ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 3,62-3,56 (м, 2H), 3,54-3,44 (м, 2H), 2,02-1,90 (м, 4H).

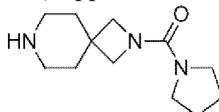
Стадия 2. Бензил-2-(пирролидин-1-карбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (13C)



Бензил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (6C) (350 мг, 1,3 ммоль), триэтиламин (408 мг, 4,03 ммоль) и дихлорметан (20 мл) добавляли в одногорлую колбу объемом 50 мл и при перемешивании растворяли при комнатной температуре. Затем реакционный раствор охлаждали до 0°C и по каплям добавляли пирролидин-1-карбонилхлорид (13B) (123 мг, 0,92 ммоль). После добавления температуру повышали до комнатной температуры и реакции позволяли идти в течение 4 ч. Реакционный раствор последовательно промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (60 мл), 3 моль/л водным раствором соляной кислоты (60 мл) и подвергали смесь процессу разделения жидкой фазы. Органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного бензил-2-(пирролидин-1-карбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (13C) в виде светло-желтой маслянистой жидкости (460 мг, выход 100%).

МС m/z = 358,2 [M+H]⁺.

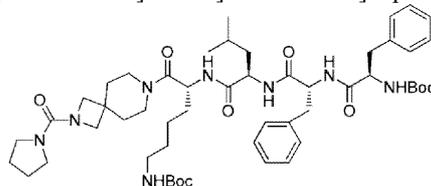
Стадия 3. 2,7-Дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил(пирролидин-1-ил)метанон (13D)



Неочищенный бензил-2-(пирролидин-1-карбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (13C) (460 мг, 1,3 ммоль), гидроксид палладия/уголь (100 мг, 20 вес.%) и изопропанол (20 мл) добавляли в одногорлую колбу объемом 50 мл. Атмосферу заменяли водородом 3 раза и нагревали до 100°C в масляной бане в течение 8 ч под атмосферой водорода (баллон). Затем реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного 2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил(пирролидин-1-ил)метанона (13D) в виде светло-желтого твердого вещества (290 мг, выход 100%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

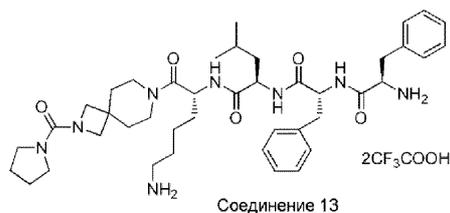
МС m/z = 224,3 [M+H]⁺.

Стадия 4. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(пирролидин-1-карбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (13E)



Неочищенный 2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил(пирролидин-1-ил)метанон (13D) (167 мг, 0,75 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимид (374 мг, 1,95 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (108 мг, 0,81 ммоль), промежуточное соединение 1 (556 мг, 0,75 ммоль) и дихлорметан (30 мл), последовательно добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл. После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир: этилацетат (об.:об.) = 1:2) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(пирролидин-1-карбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (13E) в виде белого твердого вещества (360 мг, выход 29%).

Стадия 5. (2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-Амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-N-[(1R)-5-амино-1-[2-(пирролидин-1-карбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 13)



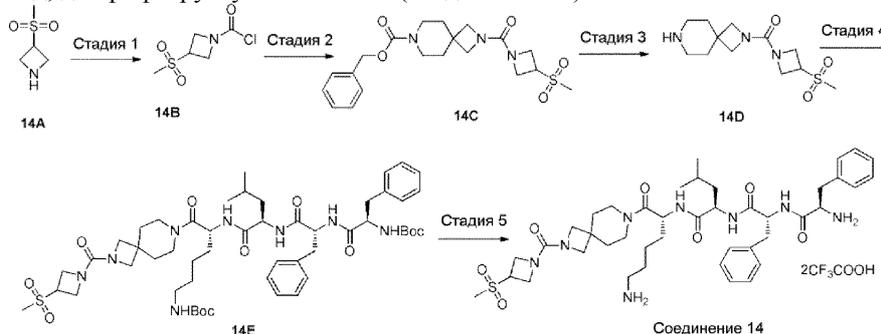
трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(пирролидин-1-карбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]-амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (13E) (360 мг, 0,38 ммоль) и дихлорметан (10 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (3 мл). После добавления системе позволяли реагировать в течение 2 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр.диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-N-[(1R)-5-амино-1-[2-(пирролидин-1-карбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-4-метилпентанамида; ди-трифторуксусной кислоты (соединения 13) в виде белого твердого вещества (169 мг, выход 45,6%).

МС $m/z = 380,4 [M+2H]^+/2$.

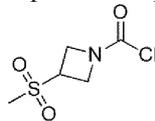
¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,75 (д, 1H), 8,35 (д, 1H), 8,09 (д, 1H), 8,01 (ш, 3H), 7,73 (ш, 3H), 7,34-7,17 (м, 10H), 4,71-4,60 (м, 2H), 4,40-4,32 (м, 1H), 4,08-3,96 (м, 2H), 3,73-3,23 (м, 8H), 3,16-3,01 (м, 3H), 2,98-2,86 (м, 1H), 2,85-2,69 (м, 3H), 1,82-1,69 (м, 4H), 1,69-1,42 (м, 11H), 1,36-1,22 (м, 2H), 0,89 (дд, 6H).

Пример 12.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[2-(3-метилсульфонилазетидин-1-карбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамида; ди-трифторуксусная кислота (соединение 14)



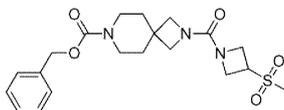
Стадия 1. 3-Метилсульфонилазетидин-1-карбонилхлорид (14B)



NaHCO₃ (756 мг, 9,0 ммоль), трифосген (0,89 г, 4,5 ммоль) и дихлорметан (8 мл) добавляли в одну горлую колбу объемом 50 мл. Реакционный раствор охлаждали до -10°C и затем по каплям медленно добавляли гидрохлорид 3-метилсульфонилазетидина (772 мг, 4,5 ммоль). После добавления температуру обратно повышали до комнатной температуры и оставляли для реакции на ночь. Реакционный раствор фильтровали, выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир: этилацетат (об.:об.) = 1:1) с получением бесцветного маслянистого вещества, 3-метилсульфонилазетидин-1-карбонилхлорида (14B) (494 мг, 50% выход).

¹H-ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 4,62-4,32 (м, 4H), 4,07-3,92 (м, 1H), 2,93 (с, 3H).

Стадия 2. Бензил-2-(3-метилсульфонилазетидин-1-карбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (14C)

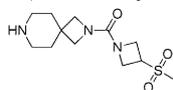


Бензил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (6C) (350 мг, 1,3 ммоль), триэтиламин (406 мг, 4,01 ммоль) и дихлорметан (20 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл и при перемешивании растворяли при комнатной температуре. Затем реакционный раствор охлаждали до 0°C и по каплям добавляли 3-метилсульфонилазетидин-1-карбонилхлорид (14B) (293 мг, 1,48 ммоль). После добавления температуру повышали до комнатной температуры и системе позволяли реагировать в течение 4 ч. Реакционный раствор последовательно промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (60 мл), 3 моль/л водным раствором соляной кислоты (60 мл) и разделяли. Органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении. Остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла) с получением бензил 2-(3-метилсульфонилазетидин-1-карбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (14C) в виде белого твердого вещества (300 мг, выход 55%).

МС m/z = 422,2 [M+H]⁺;

¹H-ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,41-7,28 (м, 5H), 5,12 (с, 2H), 4,30-4,19 (м, 4H), 4,00-3,89 (м, 1H), 3,69 (с, 4H), 3,49-3,36 (м, 4H), 2,90 (с, 3H), 1,79-1,67 (м, 4H).

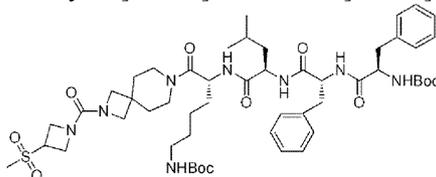
Стадия 3. 2,7-Дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил-(3-метилсульфонилазетидин-1-ил)метанон (14D)



Бензил-2-(3-метилсульфонилазетидин-1-карбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (14C) (300 мг, 0,7 ммоль), гидроксид палладия/уголь (60 мг, 20 вес.%) и изопропанол (20 мл) последовательно добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл. Атмосферу заменяли водородом 3 раза, нагревали до 100°C в масляной бане и проводили реакцию в течение 8 ч под атмосферой водорода (баллон). Затем реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного 2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил-(3-метилсульфонилазетидин-1-ил)метанона (14D) в виде светло-желтого твердого вещества (202 мг, выход 100%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

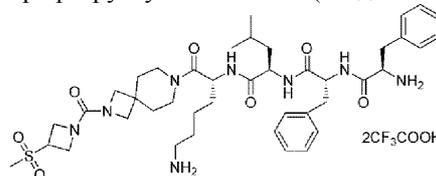
МС m/z = 288,1 [M+H]⁺.

Стадия 4. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(3-метилсульфонил-азетидин-1-карбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (14E)



Неочищенный 2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил-(3-метил-сульфонилазетидин-1-ил)метанон (14D) (202 мг, 0,7 ммоль), гидроксид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (402 мг, 2,10 ммоль), 1-гидроксисбензотриазол (115 мг, 0,85 ммоль), промежуточное соединение 1 (536 мг, 0,71 ммоль) и дихлорметан (30 мл) последовательно добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл. После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 40:1) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(3-метилсульфонилазетидин-1-карбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (14E) в виде светло-желтого твердого вещества (686 мг, 96% выход).

Стадия 5. (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-[2-(3-метилсульфонилазетидин-1-карбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]-амино]-4-метилпентанамид; 2,2,2-трифторуксусная кислота (соединение 14)



Соединение 14

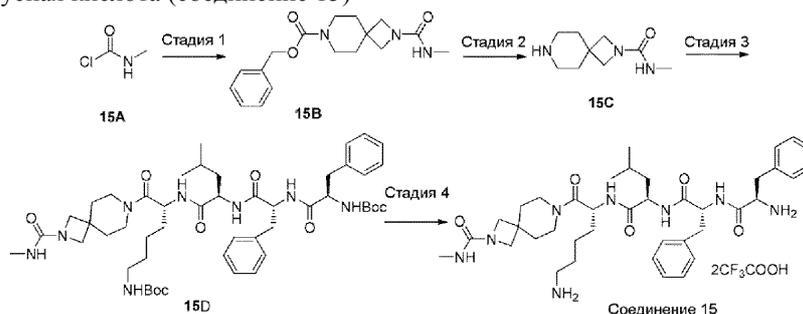
трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(3-метилсульфонил-азетидин-1-карбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтилкарбамат (14E) (680 мг, 0,66 ммоль) и дихлорметан (10 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (3 мл). После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-[2-(3-метилсульфонилазетидин-1-карбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамида; ди-трифторуксусной кислоты (соединения 14) в виде белого твердого вещества (330 мг, выход 41,3%).

МС $m/z = 412,3 [M+2H]^+/2$;

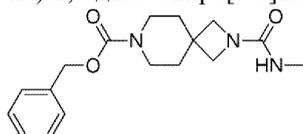
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,44-7,18 (м, 10H), 4,66 (т, 1H), 4,47-4,16 (м, 7H), 3,90-3,72 (м, 4H), 3,69-3,55 (м, 2H), 3,53-3,41 (м, 1H), 3,39-3,27 (м, 1H), 3,24-3,14 (м, 2H), 3,10 (с, 3H), 3,09-2,90 (м, 4H), 1,94-1,26 (м, 14H), 0,92 (д, 6H).

Пример 13.

7-[(2R)-6-Амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]-амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-N-метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксамид; 2,2,2-трифторуксусная кислота (соединение 15)



Стадия 1. Бензил-2-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (15B)

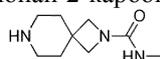


Бензил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (6C) (310 мг, 1,2 ммоль), триэтиламин (364 мг, 3,6 ммоль) и дихлорметан (20 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл и при перемешивании растворяли при комнатной температуре. Затем реакционный раствор охлаждали до 0°C и по каплям добавляли метиламиноформилхлорид (15A) (123 мг, 1,32 ммоль). После добавления температуру повышали до комнатной температуры и реакции позволяли идти в течение 4 ч. Реакционный раствор последовательно промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (60 мл), 3 моль/л водным раствором соляной кислоты (60 мл) и разделяли. Органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного бензил-2-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (15B) в виде желтого маслянистого вещества (440 мг, выход 100%).

МС $m/z = 318,2 [M+H]^+$;

¹H-ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,39-7,28 (м, 5H), 5,12 (с, 2H), 3,66 (с, 4H), 3,50-3,36 (м, 4H), 2,79 (с, 3H), 1,82-1,63 (м, 4H).

Стадия 2. N-Метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксамид (15C)

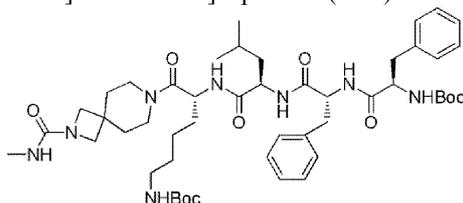


Неочищенный бензил-2-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (15B) (260 мг, 0,82 ммоль), гидроксид палладия/уголь (50 мг, 20 вес.%) и изопропанол (20 мл) последовательно добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл. Атмосферу заменяли водородом 3 раза, реакцию нагревали до 100°C в масляной бане и проводили в течение 8 ч под атмосферой водорода (баллон). Затем реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного N-метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксамид (15C) в виде светло-желтого

твердого вещества (150 мг, выход 100%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

МС $m/z = 184,3 [M+H]^+$.

Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (15D)



Неочищенный N-метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксамид (15C) (150 мг, 0,82 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламино-пропил)-3-этилкарбодиимида (374 мг, 1,95 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (110 мг, 0,81 ммоль), промежуточное соединение 1 (565 мг, 0,75 ммоль) и дихлорметан (30 мл) последовательно добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл. После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 40:1) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (15D) в виде светложелтого твердого вещества (480 мг, выход 63%).

Стадия 4. 7-[(2R)-6-Амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-N-метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 15)



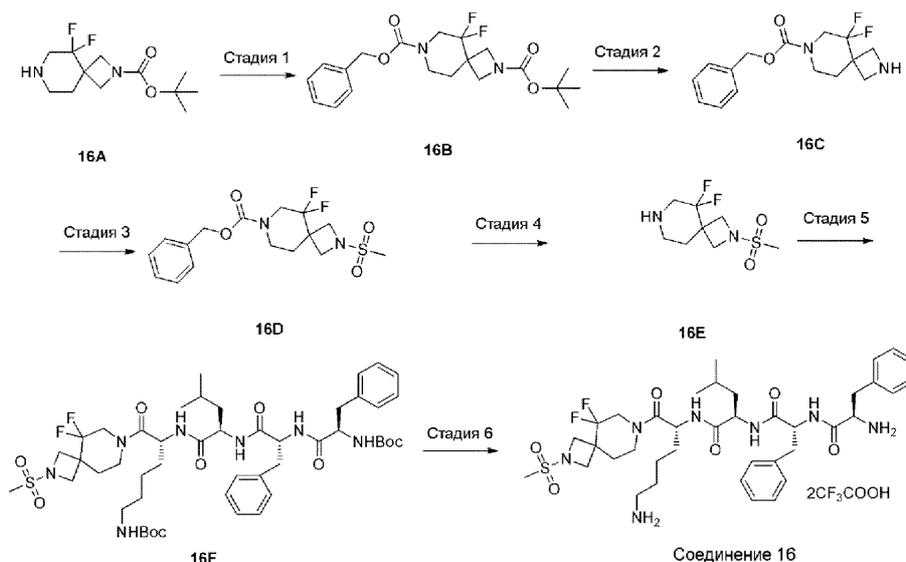
трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (15D) (480 мг, 0,52 ммоль) и дихлорметан (10 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (3 мл). После добавления системе позволяли реагировать в течение 2 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр.диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением 7-[(2R)-6-амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-N-метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксамид; ди-трифторуксусной кислоты (соединения 15) в виде белого твердого вещества (260 мг, выход 53%).

МС $m/z = 360,3 [M+2H]^+/2$;

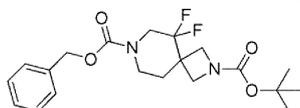
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,43-7,28 (м, 6H), 7,27-7,21 (м, 4H), 4,66 (т, 1H), 4,30 (т, 1H), 4,21 (т, 1H), 3,74 (с, 2H), 3,70 (с, 2H), 3,69-3,59 (м, 2H), 3,55-3,43 (м, 1H), 3,41-3,31 (м, 1H), 3,24-3,12 (м, 2H), 3,11-2,92 (м, 4H), 2,69 (с, 3H), 1,94-1,27 (м, 14H), 0,93 (дд, 6H).

Пример 14.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-(5,5-дифтор-2-метилсульфонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; 2,2,2-трифторуксусная кислота (соединение 16)



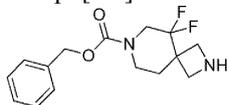
Стадия 1. О⁷-Бензил-О²-трет-бутил-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2,7-дикарбоксилат (16B)



Триэтиламин (0,85 мл, 8,4 ммоль), 5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-трет-бутилкарбоксилат (16A) (2,1 г, 8,0 ммоль) и тетрагидрофуран (15 мл) последовательно добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл. Реакционный раствор охлаждали до 0°C и затем по каплям медленно добавляли бензилхлорформат (1,5 г, 8,8 ммоль). После добавления реакцию выдерживали при 0°C в течение 10 мин, а затем температуру снова повышали до комнатной температуры и продолжали перемешивание в течение 5 ч. Реакционный раствор фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением О⁷-бензил-О²-трет-бутил-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2,7-дикарбоксилата (16B) в виде светложелтого маслянистого продукта (3,5 г, выход 100%).

МС $m/z = 419,3 [M+Na]^+$;

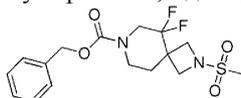
Стадия 2. Бензил-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (16C)



О⁷-Бензил-О²-трет-бутил-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2,7-дикарбоксилат (16B) (3,17 г, 8,0 ммоль) и дихлорметан (30 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (6,0 мл). После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор доводили приблизительно до pH 13 водным раствором аммиака, а затем смесь подвергали процессу разделения жидкой фазы. Органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением бензил-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (16C) в виде желтой маслянистой жидкости (2,43 г, выход 100%), которую использовали непосредственно в следующей реакции.

МС $m/z = 297,1 [M+H]^+$;

Стадия 3. Бензил-5,5-дифтор-2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (16D)

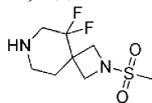


Бензил-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (16C) (310 мг, 1,05 ммоль), триэтиламин (318 мг, 3,14 ммоль) и дихлорметан (20 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и растворяли при перемешивании. После охлаждения до -10°C по каплям добавляли метансульфонилхлорид (156 мг, 1,36 ммоль) и позволяли системе реагировать в течение 4 ч. Затем температуру повышали до комнатной температуры и реакционный раствор последовательно промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (60 мл), 3 М водным раствором соляной кислоты (60 мл) и разделяли. Органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении. Остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 60:1) с получением бензил-5,5-дифтор-2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (16D) в виде белого твердого вещества (233 мг, выход 59%).

МС $m/z = 397,2 [M+Na]^+$;

1H -ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 7,42-7,29 (м, 5H), 5,15 (с, 2H), 4,09 (д, 2H), 3,78-3,59 (м, 4H), 3,51 (т, 2H), 2,89 (с, 3H), 2,08 (с, 2H).

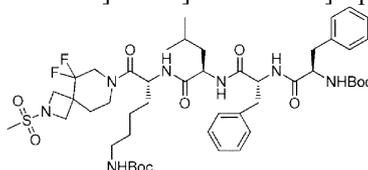
Стадия 4. 5,5-Дифтор-2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан (16E)



Бензил-5,5-дифтор-2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (16D) (230 мг, 0,5 ммоль), палладий/уголь (40 мг, 20 вес.%) и изопропанол (20 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл. Атмосферу заменяли водородом 3 раза и реакцию нагревали до 100°C в масляной бане и проводили в течение 8 ч под атмосферой водорода (баллон). Затем реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением 5,5-дифтор-2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонана (16E) в виде светло-желтого твердого вещества (155 мг, выход 100%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

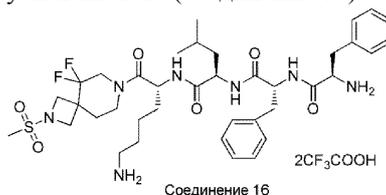
МС $m/z = 241,1 [M+H]^+$.

Стадия 5. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(5,5-дифтор-2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (16F)



5,5-Дифтор-2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан (16E) (155 мг, 0,5 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (300 мг, 2,0 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол (115 мг, 0,85 ммоль), промежуточное соединение 1 (377 мг, 0,5 ммоль) и дихлорметан (30 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 40:1) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(5,5-дифтор-2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-карбамоил]-3-метилбутил]-амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (16F) в виде белого твердого вещества (380 мг, выход 78%).

Стадия 6. (2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-(5,5-дифтор-2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; 2,2,2-трифторуксусная кислота (соединение 16)



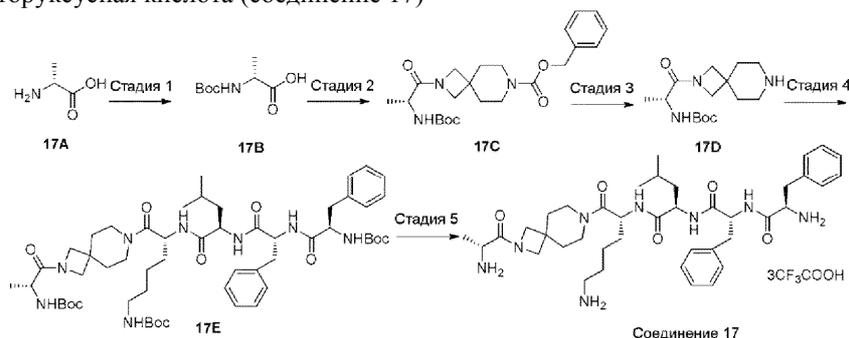
трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(5,5-дифтор-2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-карбамоил]-3-метилбутил]-амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (16F) (380 мг, 0,34 ммоль) и дихлорметан (10 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (3 мл). После добавления системе позволяли реагировать в течение 2 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H_2O ; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-(5,5-дифтор-2-метилсульфонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусной кислоты (соединения 16) в виде белого порошка (270 мг, выход 71%).

МС $m/z = 388,8 [M+2H]^+/2$;

1H -ЯМР (400 МГц, D_2O) δ 7,44-7,17 (м, 10H), 4,66 (т, 1H), 4,42-4,13 (м, 4H), 4,13-3,49 (м, 7H), 3,25-2,92 (м, 9H), 2,30-2,00 (м, 2H), 1,91-1,26 (м, 9H), 0,93 (к, 6H).

Пример 15.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[2-[(2R)-2-аминопропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]-пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусная кислота (соединение 17)



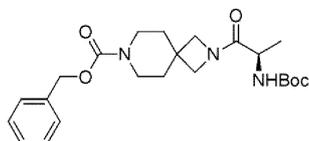
Стадия 1. (2R)-2-(трет-Бутоксикарбониламино)пропановая кислота (17B).

D-Аланин (17A) (10 г, 112,24 ммоль) и воду (56 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 250 мл и реакционный раствор охлаждали до 0°C, а затем добавляли гидроксид натрия (6,73 г, 168,36 ммоль). После добавления реакцию проводили при 0°C в течение 10 мин, а затем по каплям добавляли раствор ди-трет-бутилдикарбоната (31,85 г, 145,91 ммоль) в тетрагидрофуране (50 мл). После добавления температуру повышали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакционный раствор экстрагировали петролейным эфиром (2×100 мл) и отбрасывали органическую фазу. Водную фазу подкисляли 4 М раствором соляной кислоты приблизительно с pH 1 и затем экстрагировали этилацетатом (4×100 мл). Органические фазы объединяли и сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением (2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)пропановой кислоты (17B) в виде бесцветного маслянистого вещества (21,2 г, выход: 100%).

МС $m/z = 212,1 [M+Na]^+$;

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,34 (ш, 1H), 7,05 (д, 1H), 3,98-3,87 (м, 1H), 1,38 (с, 9H), 1,22 (д, 3H).

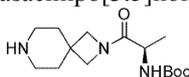
Стадия 2. Бензил-2-[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)пропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (17C)



Бензил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (6C) (335 мг, 1,3 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (748 мг, 3,9 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (211 мг, 1,56 ммоль), (2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)пропановую кислоту (17B) (246 мг, 1,3 ммоль) и дихлорметан (30 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 3:1) с получением бензил-2-[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)пропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (17C) в виде белого твердого вещества (510 мг, выход 91%).

МС $m/z = 454,3 [M+Na]^+$;

Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-2-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)-1-метил-2-оксоэтил]карбамат (17D)

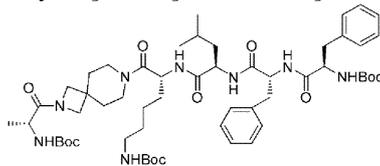


Бензил-2-[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)пропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (17C) (460 мг, 1,1 ммоль), гидроксид палладия/уголь (92 мг, 20 вес.%) и изoproпанол (20 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл. Атмосферу заменяли водородом 3 раза и реакцию нагревали до 100°C в масляной бане в течение 8 ч под атмосферой водорода (баллон). Затем смесь охлаждали до комнатной температуры, реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного трет-бутил-N-[(1R)-2-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)-1-метил-2-оксоэтил]карбамата (17D) в виде светло-желтого твердого вещества (252 мг, выход 77%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

МС $m/z = 298,3 [M+H]^+$;

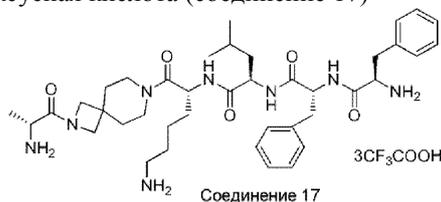
Стадия 4. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)пропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-

карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (17E)



Неочищенный трет-бутил-N-[(1R)-2-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)-1-метил-2-оксоэтил]карбамат (17D) (223 мг, 0,75 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодимида (374 мг, 1,95 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол (110 мг, 0,81 ммоль), промежуточное соединение 1 (565 мг, 0,75 ммоль) и дихлорметан (30 мл) последовательно добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 40:1) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-1-2-[(2R)-2-(трет-бутоксикарбонил-амино)пропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (17E) в виде светло-желтого твердого вещества (560 мг, 69% выход).

Стадия 5. (2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[2-[(2R)-2-аминопропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-2-[[2-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусная кислота (соединение 17)



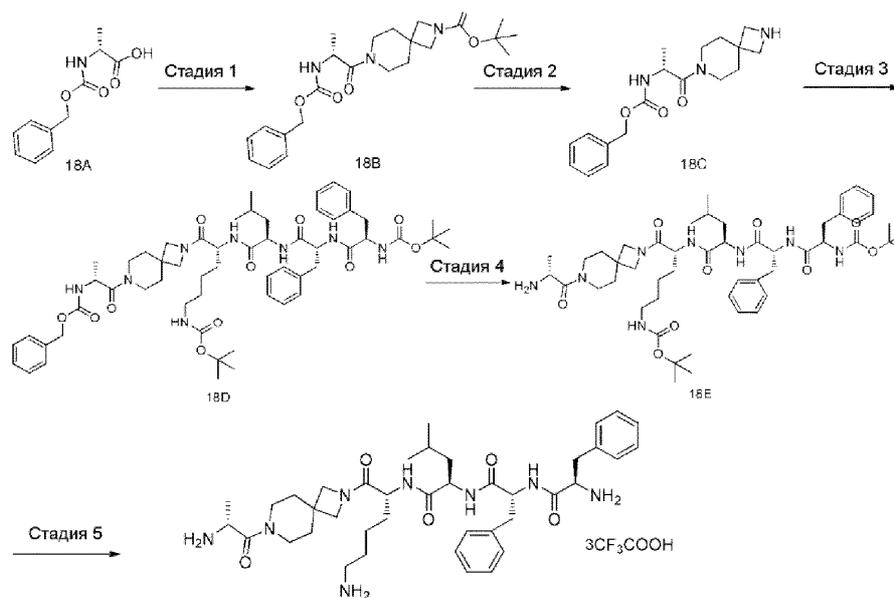
трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-1-2-[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)пропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (17E) (560 мг, 0,52 ммоль) и дихлорметан (10 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (3 мл). После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-[2-[(2R)-2-аминопропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-2-[[2-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусной кислоты (соединение 17) в виде белого порошка (310 мг, выход 45%).

МС m/z = 367,3 [M+2H]⁺/2;

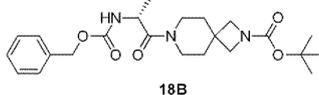
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,44-7,28 (м, 6H), 7,26-7,20 (м, 4H), 4,65 (т, 2H), 4,33-4,21 (м, 2H), 4,19-4,01 (м, 3H), 3,96-3,78 (м, 2H), 3,75-3,59 (м, 2H), 3,56-3,42 (м, 1H), 3,42-3,30 (м, 1H), 3,24-3,12 (м, 2H), 3,10-2,92 (м, 4H), 1,99-1,79 (м, 3H), 1,80-1,63 (м, 5H), 1,53 (д, 3H), 1,50-1,30 (м, 5H), 0,92 (дд, 6H).

Пример 16.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[7-[(2R)-2-аминопропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]-пентил]-2-[[2-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид три-трифторуксусной кислоты (соединение 18)



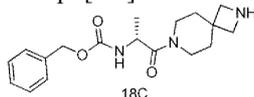
Стадия 1. Бензил-N-[(1R)-2-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-ил)-1-метил-2-оксоэтил]карбамат (18B)



трет-Бутил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (6A) (0,45 г, 2 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (780 мг, 4,1 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол (340 мг, 2,5 ммоль), (2R)-2-(бензилоксикарбониламино)пропановую кислоту (446 мг, 2,0 ммоль) и дихлорметан (30 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением бензил-N-[(1R)-2-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-ил)-1-метил-2-оксоэтил]карбамата (18B) в виде белого твердого вещества (860 мг, выход 99%).

МС $m/z = 454,2 [M+Na]^+$.

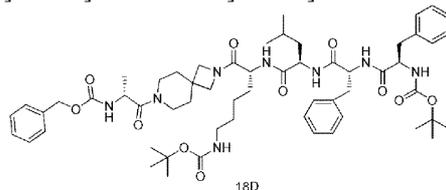
Стадия 2. Бензил-N-[(1R)-2-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-ил)-1-метил-2-оксоэтил]карбамат (18C)



Бензил-N-[(1R)-2-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-ил)-1-метил-2-оксоэтил]карбамат (18B) (0,86 г, 2 ммоль) и дихлорметан (20 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (2 мл). После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор непосредственно выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного бензил-N-[(1R)-2-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-ил)-1-метил-2-оксоэтил]карбамата (18C) в виде желтой маслянистой жидкости (660 мг, выход 100%), которую использовали непосредственно в следующей реакции.

МС $m/z = 332,2 [M+H]^+$.

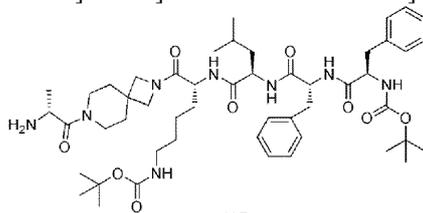
Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-[7-[(2R)-2-(бензилоксикарбониламино)пропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбонил-амино)-пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (18D)



Бензил-N-[(1R)-2-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-ил)-1-метил-2-оксоэтил]карбамат (18C) (243 мг, 0,7 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (300 мг, 2,0 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол (200 мг, 1,0 ммоль), промежуточное соединение 1 (500 мг, 0,7 ммоль) и дихлорметан (50 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 100 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорме-

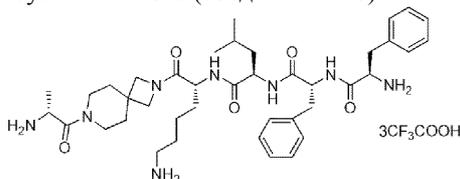
тан:метанол (об.:об.) = 30:1) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-7-[(2R)-2-(бензилоксикарбониламино)пропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]-карбата (18D) в виде светло-желтого твердого вещества (740 мг, выход 99%).

Стадия 4. трет-Бутил-N-[(1R)-2-[[[(1R)-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-7-[(2R)-2-аминопропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбат (18E)



трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-7-[(2R)-2-(бензилоксикарбонил-амино)пропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбониламино)-пентил]-карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбат (18D) (700 мг, 0,7 ммоль), палладий на угле (140 мг, 20 вес.%) и метанол (15 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл. Атмосферу заменяли водородом 3 раза и смесь подвергали реакции при комнатной температуре в течение 8 ч под атмосферой водорода. Затем реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного трет-бутил-(1R)-2-[[[(1R)-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-7-[(2R)-2-аминопропаноил]-1,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбонил)-пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбата (18E) в виде светло-желтого маслянистого вещества (650 мг, выход 99%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 5. (2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[7-[(2R)-2-аминопропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусная кислота (соединение 18)



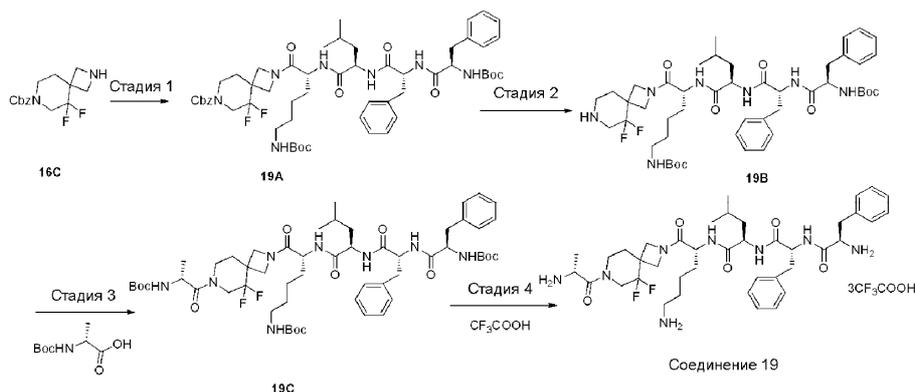
Неочищенный трет-бутил-(1R)-2-[[[(1R)-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-7-[(2R)-2-аминопропаноил]-1,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбат (18E) (650 мг, 0,7 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - АСН и В - Н₂О; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-[7-[(2R)-2-аминопропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусной кислоты (соединение 18) в виде белого порошка (170 мг, выход 19%).

МС $m/z = 733,5 [M+H]^+$;

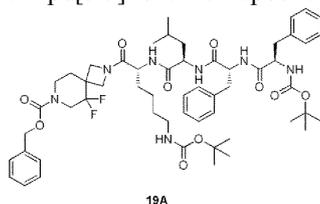
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,44-7,28 (м, 6H), 7,27-7,20 (м, 4H), 4,64 (т, 1H), 4,55-4,46 (м, 1H), 4,32-4,23 (м, 2H), 4,21-4,05 (м, 3H), 3,86-3,71 (м, 2H), 3,63-3,40 (м, 4H), 3,25-3,10 (м, 2H), 3,10-2,90 (м, 4H), 2,00-1,60 (м, 8H), 1,60-1,29 (м, 8H), 0,92 (дд, 6H).

Пример 17.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[7-[(2R)-2-аминопропаноил]-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусная кислота (соединение 19)

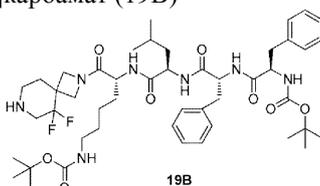


Стадия 1. Бензил-2-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (19A)



Бензил-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (16C) (797 мг, 2,69 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламино-пропил)-3-этилкарбодиимид (1,04 г, 5,4 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (400 мг, 3 ммоль), промежуточное соединение 1 (2,03 г, 2,69 ммоль) и дихлорметан (50 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 100 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 30:1) с получением бензил-2-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбонил-амино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (19A) в виде светло-желтого твердого вещества (2,49 г, 89,6% выход).

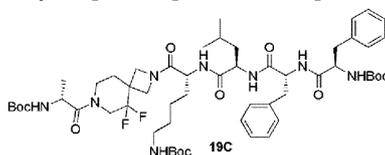
Стадия 2. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (19B)



Бензил-2-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбонил-амино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (19A) (2,49 г, 2,41 ммоль), палладий на угле (500 мг, 20 вес.%) и метанол (25 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл. Атмосферу заменяли водородом 3 раза и смесь подвергали реакции при комнатной температуре в течение 4 ч под атмосферой водорода (баллон). Затем реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбонил-амино)-1-(5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (19B) в виде светло-желтого маслянистого твердого вещества (2,16 г, выход 99%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

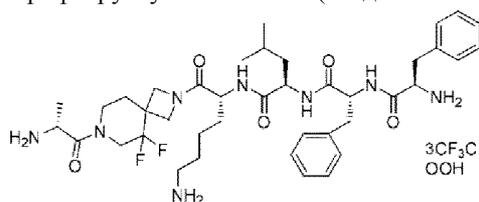
МС $m/z = 899,5 [M+H]^+$;

Стадия 3. трет-Бутил-N-(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбонил-амино)-1-[7-[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)пропаноил]-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (19C)



Неочищенный трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (19B) (400 мг, 0,4 ммоль), гидроклорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодимида (0,23 г, 1,2 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (70 мг, 0,5 ммоль), Вос-D-аланин (78 мг, 0,41 ммоль) и дихлорметан (50 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 30:1) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[7-[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)пропаноил]-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (19C) в виде светло-желтого твердого вещества (340 мг, 79% выход).

Стадия 4. (2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[7-[(2R)-2-аминопропаноил]-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]-амино]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусная кислота (соединение 19)



соединение 19

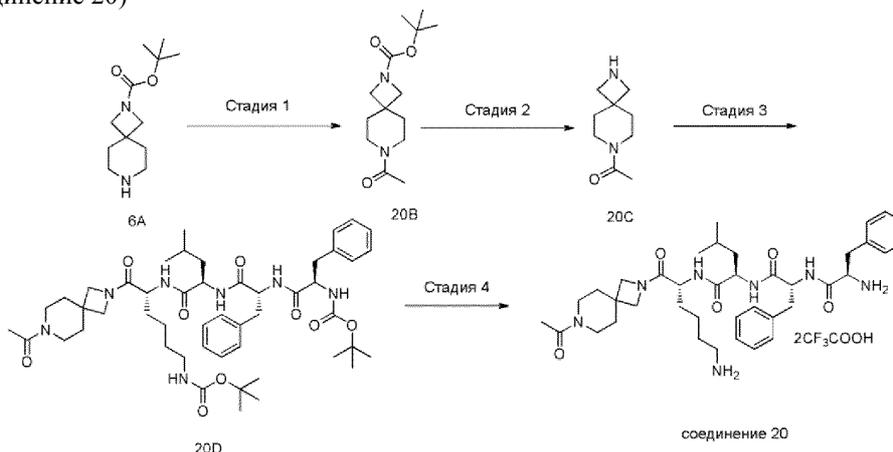
трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[7-[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)пропаноил]-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (19C) (340 мг, 0,32 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр.диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-[7-[(2R)-2-аминопропаноил]-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]-амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусной кислоты (соединения 19) в виде белого порошка (170 мг, выход 48%).

МС m/z (ИЭР) = 385,3 [M+2H]⁺/2;

¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,43-7,29 (м, 6H), 7,27-7,21 (м, 4H), 4,67-4,47 (м, 3H), 4,31-4,09 (м, 5H), 4,09-3,76 (м, 3H), 3,74-3,46 (м, 2H), 3,18 (д, 2H), 3,10-2,91 (м, 4H), 2,33-1,97 (м, 2H), 1,84-1,61 (м, 4H), 1,61-1,26 (м, 8H), 0,92 (дд, 6H).

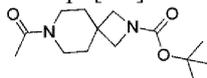
Пример 18.

(2R)-N-[(1R)-1-(7-Ацетил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)-5-аминопентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 20)



соединение 20

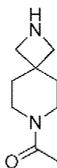
Стадия 1. трет-Бутил-7-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (20B)



трет-Бутил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (6A) (450 мг, 2,0 ммоль) растворяли в дихлорметане (5 мл) в реакционной колбе объемом 50 мл под защитой азотом и при перемешивании добавляли триэтиламин (606 мг, 6,0 ммоль). Затем температуру снижали до -20°C и по каплям добавляли ацетилхлорид (310 мг, 4,0 ммоль). После добавления температуру естественным путем повышали до комнатной температуры и перемешивали систему в течение 2 ч. Затем к реакции добавляли 0,5 М разбавленного водного раствора соляной кислоты (20 мл) и разделяли слои, перемешивали и подвергали смесь процессу разделения жидкой фазы. Водный слой экстрагировали дихлорметаном (2×20 мл) и объединяли органические фазы. Органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении, остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (чистый этилацетат) с получением трет-бутил-7-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилата (20B) в виде светло-желтой маслянистой жидкости (520 мг, выход 97,0%).

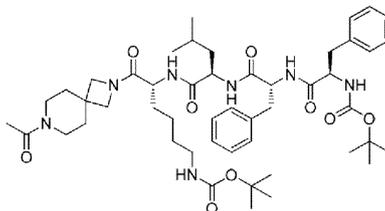
Стадия 2. 1-(2,7-Дiazаспиро[3.5]нонан-7-ил)этанон (20C).

1-(2,7-Дiazаспиро[3.5]нонан-7-ил)этанон



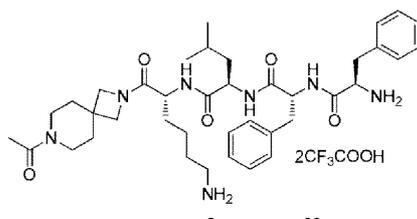
трет-Бутил-7-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (20B) (520 мг, 1,9 ммоль) и дихлорметан (6 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (3 мл). После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор непосредственно выпаривали при пониженном давлении и к остатку добавляли 4 мл концентрированного водного раствора аммиака, затем сушили безводным сульфатом натрия, промывали метанолом (20 мл) и выпаривали промывочный раствор с получением неочищенного 1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-ил)этанола (20C) в виде желтой маслянистой жидкости (250 мг, выход 77%), которую использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 3. N-(1R)-2-[[[(1R)-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-(7-Ацетил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамат (20D)



1-(2,7-Дiazаспиро[3.5]нонан-7-ил)этанон (20C) (250 мг, 1,49 ммоль) добавляли в этилацетат (10 мл) в реакционной колбе объемом 50 мл под защитой азотом. Смесь охлаждали до 0°C в ледяной бане и добавляли промежуточное соединение 1 (800 мг, 1,06 ммоль), гидроклорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (305 мг, 1,6 ммоль) и 1-гидроксибензотриазол (172 мг, 1,27 ммоль). После добавления реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 1,5 ч. Затем в реакционный раствор добавляли 1 М водный раствор соляной кислоты (15 мл), смесь перемешивали и затем подвергали процессу разделения жидкой фазы. Насыщенный водный раствор карбоната натрия (15 мл) добавляли к органической фазе и перемешивали смесь в течение 30 мин, а затем подвергали процессу разделения жидкой фазы. Органическую фазу промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (15 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного N-(1R)-2-[[[(1R)-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-(7-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамата (20D) в виде светло-желтого вспененного твердого вещества (0,85 г, выход 88%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 4. (2R)-N-[(1R)-1-(7-Ацетил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)-5-аминопентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 20)



Соединение 20

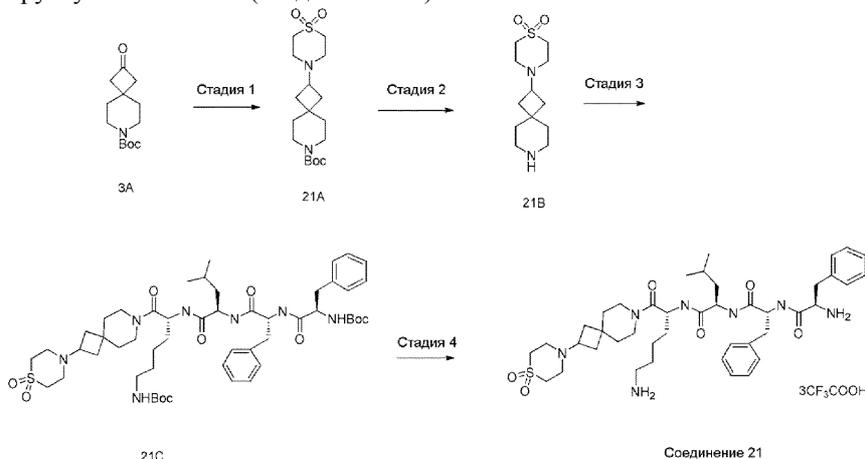
Неочищенный N-(1R)-2-[[[(1R)-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-(7-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамат (20D) (0,85 г, 0,94 ммоль) растворяли в дихлорметане (7,5 мл) и добавляли трифторуксусную кислоту (3,5 мл). Систему перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении. После разделения и очистки остатка с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - АСN и В - Н₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла) полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением ((2R)-N-[(1R)-1-(7-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)-5-аминопентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамида; ди-трифторуксусной кислоты (соединения 20) в виде белого твердого вещества (310 мг, выход 40,0%).

МС m/z (ИЭР) = 352,8 [M+2H]⁺/2;

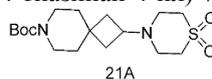
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,46-7,17 (м, 10H), 4,64 (т, 1H), 4,29-4,05 (м, 5H), 3,83-3,74 (м, 2H), 3,57-3,35 (м, 4H), 3,24-3,11 (м, 2H), 3,09-2,93 (м, 4H), 2,17-1,29 (м, 16H), 0,92 (дд, 6H).

Пример 19.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[2-(1,1-диоксо-1,4-тиазиан-4-ил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]-пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид три-трифторуксусной кислоты (соединение 21)

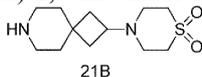


Стадия 1. трет-Бутил-2-(1,1-диоксо-1,4-тиазиан-4-ил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (21А)

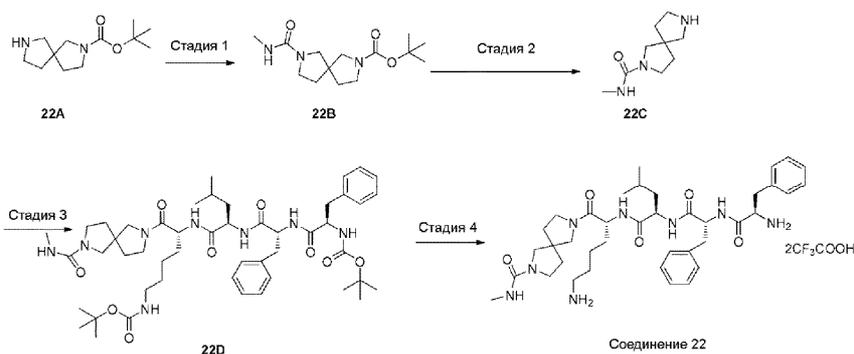


трет-Бутил-2-оксо-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (3А) (129 мг, 0,54 ммоль), уксусную кислоту (65 мг, 1,08 ммоль), 1,4-тиазиан-1,1-диоксид (72 мг, 0,54 ммоль), триацетоксиборогидрид натрия (229 мг, 1,08 ммоль) и дихлорметан (20 мл) последовательно добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл. После добавления реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционный раствор подвергали вакуумной фильтрации и промывали фильтрат насыщенным раствором бикарбоната натрия (50 мл). После разделения органический слой сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали на вакуумном фильтре и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением трет-бутил-(1,1-диоксо-1,4-тиазиан-4-ил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (21А) в виде белого порошка (147 мг, выход 76%).

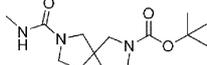
Стадия 2. 4-(7-Азаспиро[3.5]нонан-2-ил)-1,4-тиазиан-1,1-диоксид (21В)



трет-Бутил-(1,1-диоксо-1,4-тиазиан-4-ил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (21А) (147 мг, 0,41 ммоль) и дихлорметан (10 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при ком-



Стадия 1. трет-Бутил-7-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[4.4]нонан-2-карбоксилат (22B)

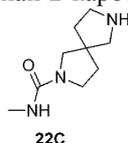


22B

2-Вос-2,7-дiazаспиро[4.4]нонан (22A) (452 мг, 2,0 ммоль), триэтиламин (400 мг, 4,0 ммоль) и дихлорметан (15 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и растворяли при перемешивании. После охлаждения до -10°C по каплям добавляли метиламиноформилхлорид (188 мг, 2,01 ммоль). После добавления реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 3 ч. В реакционный раствор добавляли 3 М разбавленную соляную кислоту (50 мл) и затем экстрагировали дихлорметаном (2×60 мл). Органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением трет-бутил-7-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[4.4]нонан-2-карбоксилата (22B) в виде белого твердого вещества (570 мг, выход 65,5%).

^1H -ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 3,51-3,16 (м, 8H), 2,82 (с, 3H), 1,98-1,74 (м, 4H), 1,46 (с, 9H).

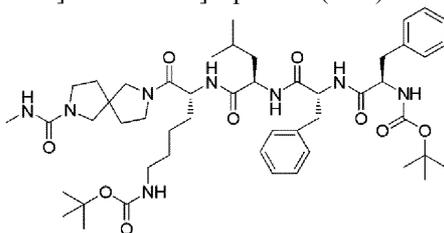
Стадия 2. N-Метил-2,7-дiazаспиро[4.4]нонан-2-карбоксамид (22C)



22C

трет-Бутил-7-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[4.4]нонан-2-карбоксилат (22B) (161 мг, 0,568 ммоль), дихлорметан (10 мл) и трифторуксусную кислоту (1,2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного N-метил-2,7-дiazаспиро[4.4]нонан-2-карбоксамид (22C) в виде светло-желтого маслянистого вещества, которое использовали непосредственно в следующей реакции.

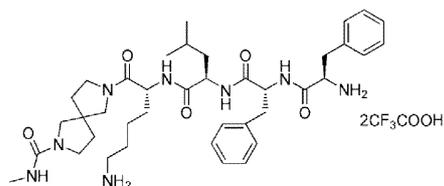
Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[4.4]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (22D)



22D

Неочищенный N-метил-2,7-дiazаспиро[4.4]нонан-2-карбоксамид (22C) (81 мг, 0,44 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (0,288 г, 1,5 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (81 мг, 0,6 ммоль), промежуточное соединение 1 (330 мг, 0,44 ммоль) и дихлорметан (50 мл) последовательно добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 30:1) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[4.4]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (22D) в виде светло-желтого твердого вещества (420 мг, выход 98%).

Стадия 4. 7-[(2R)-6-Амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-N-метил-2,7-дiazаспиро[4.4]нонан-2-карбоксамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 22)



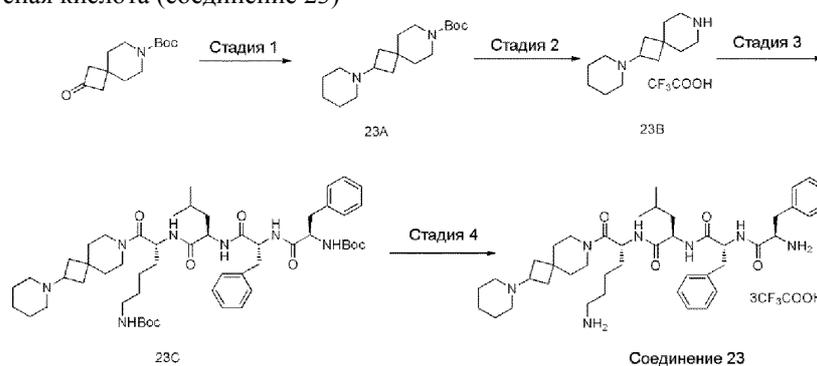
трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[4.4]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (22D) (400 мг, 0,44 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением 7-[[[(2R)-6-амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-N-метил-2,7-дiazаспиро[4.4]нонан-2-карбоксамида; ди-трифторуксусной кислоты (соединения 22) в виде белого порошка (130 мг, выход 31,5%).

МС m/z (ИЭР) = 360,3 [M+2H]⁺/2;

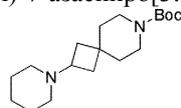
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,43-7,19 (м, 10H), 4,68-4,60 (м, 1H), 4,50-4,19 (м, 3H), 3,93-3,62 (м, 2H), 3,55-3,27 (м, 5H), 3,24 (с, 1H), 3,18 (д, 2H), 3,09-2,94 (м, 4H), 2,74-2,66 (м, 3H), 2,10-1,85 (м, 4H), 1,84-1,62 (м, 4H), 1,59-1,43 (м, 4H), 1,43-1,29 (м, 1H), 0,92 (дд, 6H).

Пример 21.

(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-Амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-N-[(1R)-5-амино-1-[2-(1-пиперидинил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусная кислота (соединение 23)

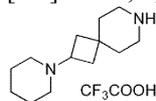


Стадия 1. трет-Бутил-2-(1-пиперидинил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (23А)



2-Оксо-7-азаспиро[3.5]нонан-7-трет-бутил-карбоксилат (0,48 г, 2 ммоль), пиперидин (0,25 г, 3 ммоль) и дихлорметан (10 мл) добавляли в реакционную колбу, перемешивали в течение 30 мин, охлаждали до 0-5°C и добавляли цианоборогидрид натрия (0,13 г, 4 ммоль). После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 4 ч и использовали ТСХ для контроля полного завершения реакции. Добавляли дихлорметан (10 мл) и воду (10 мл) и перемешивали в течение 5 мин. Слои оставляли для разделения и органический слой сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного трет-бутил-2-(1-пиперидинил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (23А) в виде светло-желтого твердого вещества (0,53 г, выход 86%), которое использовали непосредственно в следующей стадии.

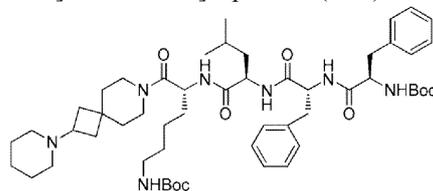
Стадия 2. 2-(1-Пиперидинил)-7-азаспиро[3.5]нонан; 2,2,2-трифторуксусная кислота (23В)



трет-Бутил-2-(1-пиперидинил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (23А, 0,53 г, 1,7 ммоль) добавляли к дихлорметану (5 мл) в реакционной колбе объемом 50 мл под защитой азотом и при перемешивании добавляли трифторуксусную кислоту (2 мл). После добавления системе позволяли реагировать при

комнатной температуре в течение 2 ч. ТСХ использовали для контроля завершения реакции и реакцию выпаривали досуха при пониженном давлении с получением 2-(1-пиперидинил)-7-азаспиро[3.5]нонана; трифторуксусной кислоты (23В) в виде светло-желтого маслянистого вещества (0,50 г, выход 90%), которое использовали непосредственно в следующей стадии.

Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(1-пиперидинил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (23С)



2-(1-Пиперидинил)-7-азаспиро[3.5]нонан трифторуксусную кислоту (23В, 0,50 г, 1,60 ммоль) добавляли к дихлорметану (10 мл) в реакционной колбе объемом 50 мл под защитой азотом. Смесь охлаждали до 0°C в ледяной бане и добавляли промежуточное соединение 1 (0,50 г, 0,66 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (190 мг, 0,99 ммоль) и 1-гидроксибензотриазол (110 мг, 0,81 ммоль). После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 3 ч. После этого в реакционный раствор добавляли 1 М водный раствор соляной кислоты (15 мл) и перемешивали смесь, а затем подвергали процессу разделения жидкой фазы. К органической фазе добавляли насыщенный водный раствор карбоната натрия (15 мл) и перемешивали смесь в течение 30 мин, а затем подвергали процессу разделения жидкой фазы. Органическую фазу промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (15 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(1-пиперидинил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (23С) в виде светло-желтого вспененного твердого вещества (0,45 г, выход 72%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 4. (2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-Амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-N-[(1R)-5-амино-1-[2-(1-пиперидинил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусная кислота (соединение 23)



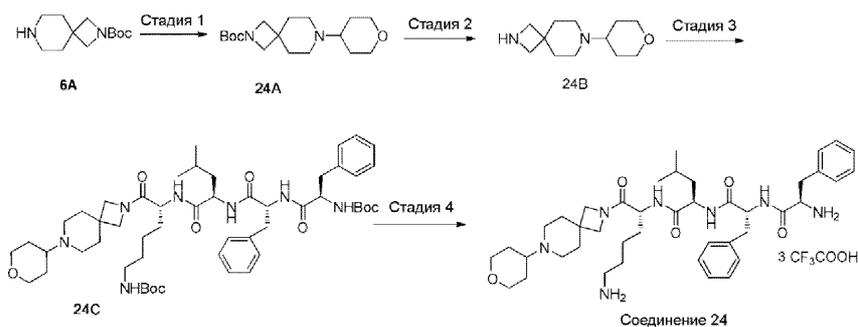
Неочищенный трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(1-пиперидинил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (23С) (0,45 г, 0,48 ммоль) растворяли в дихлорметане (7,5 мл) и добавляли трифторуксусную кислоту (3,5 мл), и систему перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении. После разделения и очистки остатка с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр.диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - АСН и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла) полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-N-[(1R)-5-амино-1-[2-(1-пиперидинил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусной кислоты (соединения 23) в виде белого твердого вещества (260 мг, выход 56%).

МС m/z (ИЭР): 372,9 [M+2H]⁺/2;

¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,48-7,09 (м, 10H), 4,68-4,60 (м, 1H), 4,34-4,17 (м, 2H), 3,73-3,52 (м, 3H), 3,52-2,92 (м, 10H), 2,80-2,64 (м, 2H), 2,47-2,24 (м, 2H), 2,05-1,88 (м, 4H), 1,88-1,20 (м, 18H), 1,00-0,81 (м, 6H).

Пример 22.

(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-Амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-N-[(1R)-5-амино-1-(7-тетрагидропиран-4-ил-2,7-диазаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-4-метилпентанамид три-трифторуксусная кислота (соединение 24)



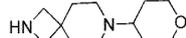
Стадия 1. трет-Бутил-7-тетрагидропиран-4-ил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (24А)



трет-Бутил-2,7-дiazаспиро[3.4]нонан-2-карбоксилат (6А) (0,452 г, 2 ммоль), тетрагидропиран (200 мг, 2 ммоль), уксусную кислоту (120 мг, 2,0 ммоль) и дихлорэтан (7 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и перемешивали в течение 0,5 ч. Добавляли триацетоксиборгидрид натрия (0,636 г, 3 ммоль) и системе позволяли реагировать в течение 5 ч. В реакционный раствор затем вливали воду (10 мл), экстрагировали этилацетатом (3×5 мл) и объединяли органические фазы, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении. Остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 4:1) с получением трет-бутил-7-тетрагидропиран-4-ил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилата (24А) в виде светло-желтого маслянистого вещества (500 мг, выход 80,64%).

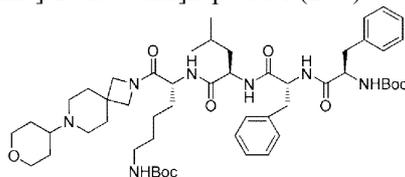
МС $m/z = 311,2 [M+H]^+$.

Стадия 2. 7-Тетрагидропиран-4-ил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан (24В)



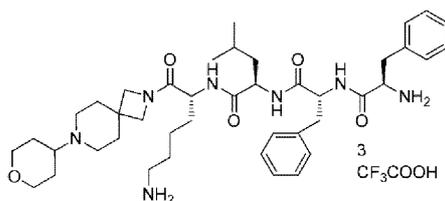
трет-Бутил-7-тетрагидропиран-4-ил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (24А) (0,5 г, 1,61 ммоль) и дихлорметан (7 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (1 мл). После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор непосредственно выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного 7-тетрагидропиран-4-ил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонана (24В) в виде светло-желтой маслянистой жидкости (338 мг, выход 100%), которую использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 3. трет-Бутил-N-((1R)-1-бензил-2-(((1R)-1-бензил-2-(((1R)-1-(((1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(7-тетрагидропиран-4-ил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)пентил)карбамоил)-3-метилбутил)амино)-2-оксоэтил)амино)-2-оксоэтил)карбамат (24С)



Неочищенный 7-тетрагидропиран-4-ил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан (24В) (338 мг, 1,61 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (384 мг, 2 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (270 мг, 2 ммоль), промежуточное соединение 1 (400 мг, 0,53 ммоль) и дихлорметан (30 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 1:2) с получением трет-бутил-N-((1R)-1-бензил-2-(((1R)-1-бензил-2-(((1R)-1-(((1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(7-тетрагидропиран-4-ил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)пентил)карбамоил)-3-метилбутил)амино)-2-оксоэтил)амино)-2-оксоэтил)карбамата (24С) в виде белого твердого вещества (200 мг, выход 39,93%).

Стадия 4. (2R)-2-(((2R)-2-(((2R)-2-Амино-3-фенилпропаноил)амино)-3-фенилпропаноил)амино)-N-((1R)-5-амино-1-(2-пиперазин-1-ил-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил)-4-метилпентанамид три-трифторуксусной кислоты (соединение 24)



Соединение 24

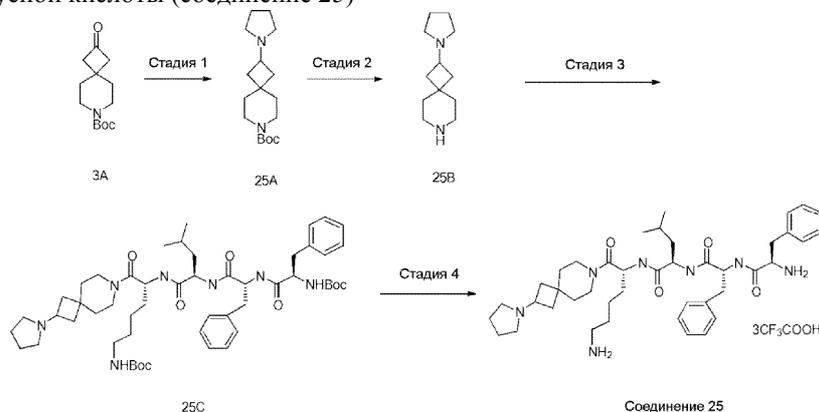
трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(7-тетрагидропиран-4-ил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]-амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (24C) (200 мг, 0,21 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]-амино]-N-[(1R)-5-амино-1-(7-тетрагидропиран-4-ил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)пентил]-4-метилпентаамида; три-трифторуксусной кислоты (соединения 24) в виде белого порошка (135 мг, выход 86,1%).

МС $m/z = 373,9 [M+2H]^+/2$;

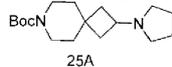
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,46-7,29 (м, 10H), 4,71 (т, 1H), 4,27-4,16 (м, 7H), 3,93-3,86 (м, 2H), 3,66-3,53 (м, 5H), 3,25-3,05 (м, 8H), 2,34-2,13 (м, 6H), 1,79-1,43 (м, 11H), 1,02-0,95 (м, 6H).

Пример 23.

(2R)-2-[[[(2R)-2-Амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-N-[(1R)-5-амино-1-(2-пирролидин-1-ил-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-4-метилпентаамида три-трифторуксусной кислоты (соединение 25)

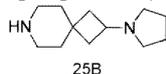


Стадия 1. трет-Бутил-2-пирролидин-1-ил-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (25A)



трет-Бутил-2-оксо-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (3A) (131 мг, 0,55 ммоль), уксусную кислоту (66 мг, 1,1 ммоль), пирролидин (39 мг, 0,55 ммоль), триацетоксиборогидрид натрия (233 мг, 1,1 ммоль) и дихлорметан (20 мл) последовательно добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл. После добавления реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 6 ч. Реакционный раствор фильтровали на вакуумном фильтре и промывали фильтрат насыщенным раствором бикарбоната натрия (30 мл). После разделения жидкой фазы органический слой сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали на вакуумном фильтре и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением трет-бутил-2-пирролидин-1-ил-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (25A) в виде белого порошка (120 мг, выход 75%).

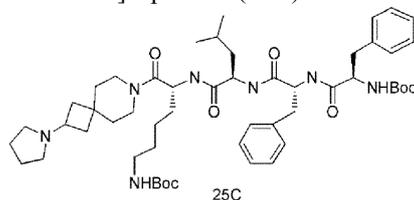
Стадия 2. 2-Пирролидин-1-ил-7-азаспиро[3.5]нонан (25B)



трет-Бутил-(2-пирролидин-1-ил-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (25A) (120 мг, 0,41 ммоль) и дихлорметан (10 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (2 мл). После добавления системе позволяли реагировать

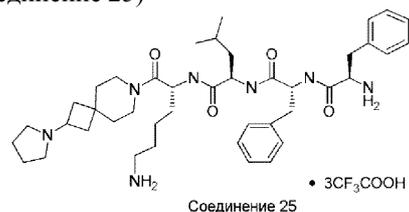
при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор непосредственно выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного 2-пирролидин-1-ил-7-азаспиро[3.5]нонана (25B) в виде желтой маслянистой жидкости (80 мг, выход 100%), которую использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(2-пирролидин-1-ил-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (25C)



Неочищенный 2-пирролидин-1-ил-7-азаспиро[3.5]нонан (25B) (80 мг, 0,41 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодимида (96 мг, 0,5 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (67,5 мг, 0,5 ммоль), промежуточное соединение 1 (309 мг, 0,41 ммоль) и дихлорметан (20 мл) добавляли в одногорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением трет-бутил-(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(2-пирролидин-1-ил-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (25C) в виде светло-желтого твердого вещества (344 мг, выход 90%).

Стадия 4. (2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-Амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-N-[(1R)-5-амино-1-(2-пирролидин-1-ил-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-4-метилпентанамид три-трифторуксусной кислоты (соединение 25)



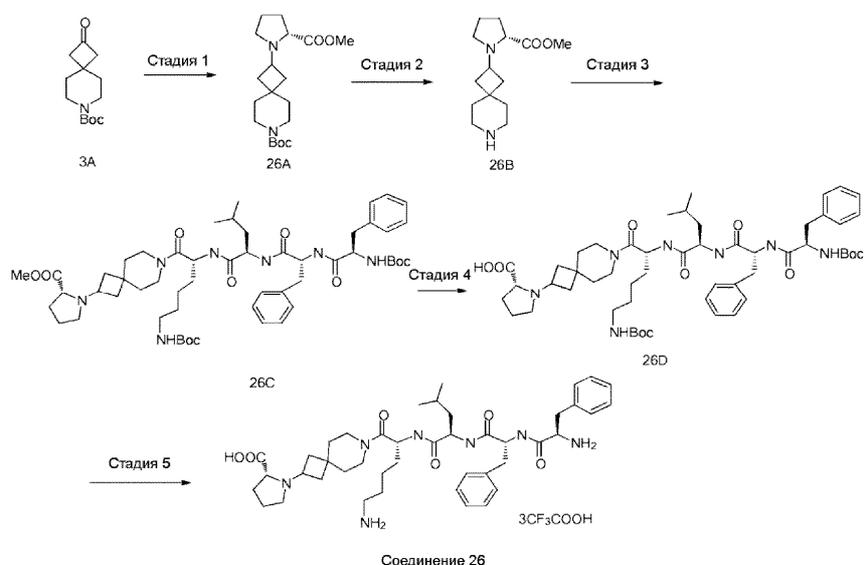
трет-Бутил-(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(2-пирролидин-1-ил-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (25C) (344 мг, 0,37 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением ((2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]-амино]-N-[(1R)-5-амино-1-(2-пирролидин-1-ил-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусной кислоты (соединения 25) в виде белого порошка (249 мг, выход 70%).

МС $m/z = 365,8 [M+2H]^+/2$;

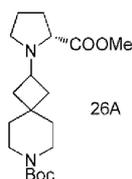
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,43-7,13 (м, 10H), 4,71-4,70 (м, 1H), 4,62 (т, 1H), 4,30-4,17 (м, 2H), 3,82-3,74 (м, 1H), 3,68-3,39 (м, 5H), 3,38-3,21 (м, 1H), 3,15 (д, 2H), 3,06-2,90 (м, 6H), 2,43-2,25 (м, 2H), 2,16-1,89 (м, 6H), 1,78-1,27 (м, 13H), 0,89 (дд, 6H).

Пример 24.

(2R)-1-[7-[(2R)-6-Амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-ил]пирролидин-2-карбоновая кислота, три-трифторуксусная кислота (соединение 26)

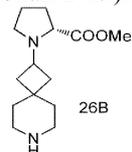


Стадия 1. трет-Бутил-2-[(2R)-2-метоксикарбонилпирролидин-1-ил]-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (26A)



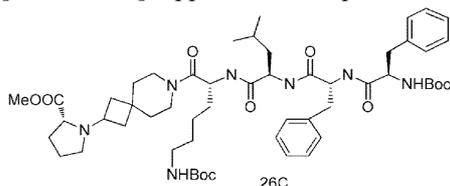
трет-Бутил-2-оксо-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (3A) (287 мг, 1,2 ммоль), уксусную кислоту (144 мг, 2,4 ммоль), сложный метиловый эфир D-пролина (154 мг, 1,2 ммоль), триацетоксиборогидрид натрия (233 мг, 2,4 ммоль) и дихлорметан (30 мл) последовательно добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл. После добавления реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 6 ч. Реакционный раствор фильтровали на вакуумном фильтре и промывали фильтрат насыщенным раствором бикарбоната натрия (50 мл). После разделения жидкой фазы органический слой сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали на вакуумном фильтре и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением трет-бутил-2-пирролидин-1-ил-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (26A) в виде белого порошка (275 мг, выход 65%).

Стадия 2. Метил-(2R)-1-(7-азаспиро[3.5]нонан-2-ил)пирролидин-2-карбоксилат (26B)



трет-Бутил-2-[(2R)-2-метоксикарбонилпирролидин-1-ил]-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (26A) (275 мг, 0,78 ммоль) и дихлорметан (10 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (2 мл). После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор непосредственно выпаривали при пониженном давлении с получением метил-(2R)-1-(7-азаспиро[3.5]нонан-2-ил)пирролидин-2-карбоксилата (26B) в виде желтой маслянистой жидкости (196 мг, выход 100%), которую использовали непосредственно в следующей реакции.

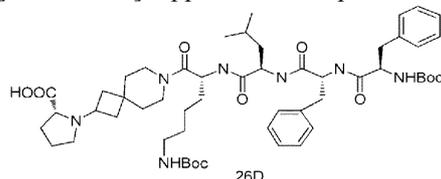
Стадия 3. Метил-(2R)-1-[7-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]-амино]гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-ил]пирролидин-2-карбоксилат (26C)



Метил-(2R)-1-(7-азаспиро[3.5]нонан-2-ил)пирролидин-2-карбоксилат (26B) (196 мг, 0,78 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (180 мг, 0,94 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол (127 мг, 0,94 ммоль), промежуточное соединение 1 (587 мг, 0,78 ммоль) и дихлорметан (20 мл) добавляли в однокорную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при

комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением метил-(2R)-1-[7-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[трет-бутоксикарбониламино]-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-ил]пирролидин-2-карбоксилата (26C) в виде белого твердого вещества (385 мг, выход 50%).

Стадия 4. (2R)-1-[7-[(2R)-6-(трет-Бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[трет-бутоксикарбониламино]-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]-амино]гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-ил]пирролидин-2-карбоновая кислота (26D)



Метил-(2R)-1-[7-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[трет-бутоксикарбонил-амино]-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-ил]пирролидин-2-карбоксилат (26C) (385 мг, 0,39 ммоль) растворяли в метаноле (5 мл) при комнатной температуре и в реакционный раствор добавляли водный раствор гидроксида натрия (16 мг, 0,4 ммоль) (10 мл). Системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор доводили до pH <4 1 М водным раствором соляной кислоты, экстрагировали этилацетатом (20 мл) и подвергали смесь процессу разделения жидкой фазы, органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением метил-(2R)-1-[7-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[трет-бутоксикарбониламино]-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]-амино]гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-ил]пирролидин-2-карбоксилата (26D) в виде белого твердого вещества (345 мг, выход 93%).

Стадия 5. (2R)-1-[7-[(2R)-6-Амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-ил]пирролидин-2-карбоновая кислота; три-трифторуксусная кислота (соединение 26)



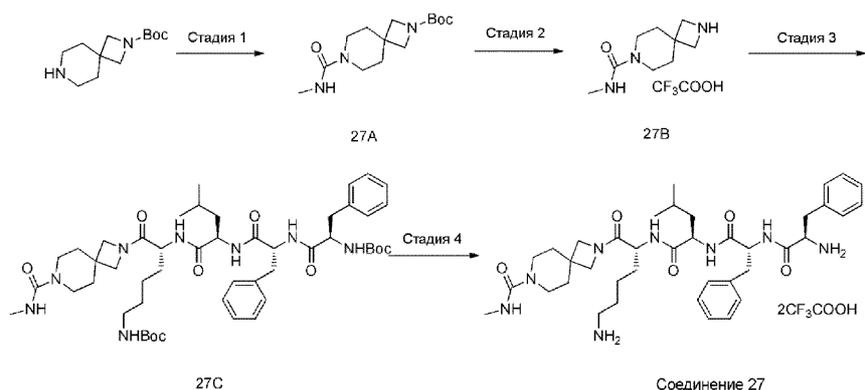
(2R)-1-[7-[(2R)-6-(трет-Бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[трет-бутоксикарбонил-амино]-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-ил]пирролидин-2-карбоновую кислоту (26D) (345 мг, 0,36 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-1-[7-[(2R)-6-амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-ил]пирролидин-2-карбоновой кислоты; три-трифторуксусной кислоты (соединения 26) в виде белого порошка (240 мг, выход 60%).

МС m/z = 387,8 [M+2H]⁺/2;

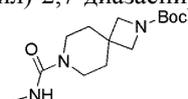
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,44-7,09 (м, 10H), 4,27-4,19 (м, 3H), 3,96-3,84 (м, 2H), 3,67-3,50 (м, 3H), 3,48-3,21 (м, 3H), 3,19-2,89 (м, 7H), 2,50-2,22 (м, 3H), 2,18-1,91 (м, 5H), 1,78-1,24 (м, 13H), 0,88 (дд, 6H).

Пример 25.

2-[[[(2R)-6-Амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-N-метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 27)

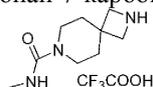


Стадия 1. трет-Бутил-7-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (27A)



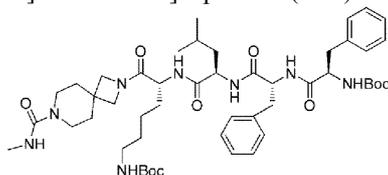
2-трет-Бутоксикарбонил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан (0,45 г, 2 ммоль), дихлорметан (10 мл) и триэтиламин (0,30 г, 3 ммоль) добавляли в реакционную колбу под защитой азотом. Смесь охлаждали до 0-5°C и добавляли метиламиноформилхлорид (0,20 г, 2,2 ммоль). После добавления охлаждение прекращали, повышали температуру до комнатной температуры и продолжали реакцию в течение 1 ч. ТСХ использовали для контроля завершения реакции. Добавляли дихлорметан (10 мл) и воду (10 мл) и после перемешивания в течение 5 мин слои оставляли для разделения; органический слой сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан/метанол (об./об.) = 20/1) с получением трет-бутил-7-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилата (27A) в виде светло-желтого маслянистого вещества (0,48 г, выход 85%).

Стадия 2. N-Метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксамид; 2,2,2-трифторуксусная кислота (27B)



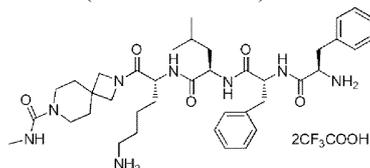
трет-Бутил-7-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (27A, 0,48 г, 1,7 ммоль) добавляли к дихлорметану (5 мл) в реакционной колбе объемом 50 мл под защитой азотом и при перемешивании добавляли трифторуксусную кислоту (2 мл). После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. ТСХ использовали для контроля завершения реакции, и реакцию выпаривали досуха при пониженном давлении с получением N-метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксамид; трифторуксусной кислоты (27B) в виде светло-желтого маслянистого вещества (0,49 г, выход 97%), которое использовали непосредственно в следующей стадии.

Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[7-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (27C)



Неочищенный N-метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксамид; трифторуксусную кислоту (27B) (0,48 г, 2,60 ммоль) добавляли в дихлорметан (10 мл) в реакционной колбе объемом 50 мл под защитой азотом. Смесь охлаждали до 0°C в ледяной бане и добавляли промежуточное соединение 1 (0,50 г, 0,66 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (200 мг, 0,93 ммоль) и 1-гидроксибензотриазол (125 мг, 0,93 ммоль). После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 3 ч. Затем в реакционный раствор добавляли 1 М водный раствор соляной кислоты (15 мл) и смесь перемешивали, а затем подвергали процессу разделения жидкой фазы. К органической фазе добавляли насыщенный водный раствор карбоната натрия (15 мл) и смесь перемешивали в течение 30 мин, а затем подвергали процессу разделения жидкой фазы. Органическую фазу промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (15 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[7-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (27C) в виде светло-желтого вспененного твердого вещества (0,5 г, выход 80%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 4. 2-[(2R)-6-Амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-N-метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 27)



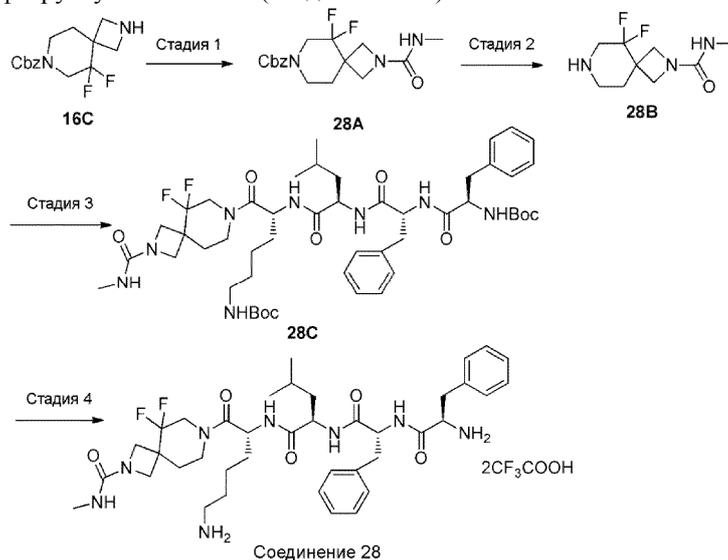
Неочищенный трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[7-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (27C) (0,5 г, 0,5 ммоль) растворяли в дихлорметане (7,5 мл) и добавляли трифторуксусную кислоту (3,5 мл). Систему перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - АСN и В - Н₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением 2-[(2R)-6-амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-N-метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксамид; ди-трифторуксусной кислоты (соединения 27) в виде белого твердого вещества (220 мг, выход 40%).

МС m/z (ИЭР): 360,3 [M+1H]⁺/2;

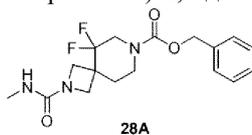
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,45-7,16 (м, 10H), 4,66-4,57 (м, 1H), 4,32-4,19 (м, 2H), 4,19-3,99 (м, 3H), 3,83-3,66 (м, 2H), 3,40-3,22 (м, 4H), 3,22-3,12 (м, 2H), 3,06-2,99 (м, 4H), 2,69 (с, 3H), 1,80-1,62 (м, 8H), 1,58-1,27 (м, 5H), 1,03-0,79 (м, 6H).

Пример 26.

7-[(2R)-6-Амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]-амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-5,5-дифтор-N-метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 28)



Стадия 1. Бензил-5,5-дифтор-2-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (28A)



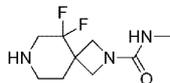
Бензил-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (16C) (330 мг, 1,11 ммоль), триэтиламин (364 мг, 3,6 ммоль) и дихлорметан (20 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и растворяли при перемешивании. После охлаждения до -10°C по каплям добавляли метиламиноформилхлорид (104 мг, 1,11 ммоль). После добавления реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 3 ч. В реакционный раствор добавляли 3 М разбавленную соляную кислоту (50 мл) и экстрагировали смесь дихлорметаном (2×60 мл). Органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия,

фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением бензил-5,5-дифтор-2-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (28A) в виде белого твердого вещества (268 мг, выход 68,6%).

МС m/z (ПЭР) = 354,1 $[M+H]^+$;

1H -ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 7,41-7,28 (м, 5H), 5,14 (с, 2H), 4,09 (д, 2H), 3,65 (дд, 4H), 3,51-3,44 (м, 2H), 2,79 (с, 3H), 2,01 (с, 2H).

Стадия 2. 5,5-Дифтор-N-метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксамид (28B)

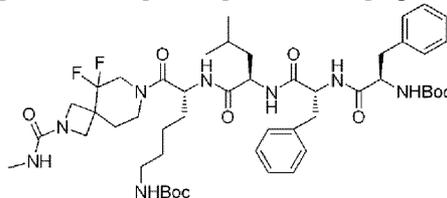


28B

Бензил-5,5-дифтор-2-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (28A) (269 мг, 0,76 ммоль), палладий на угле (54 мг, 20 вес.%) и метанол (5 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл. Атмосферу заменяли водородом 3 раза и смесь подвергали реакции под атмосферой водорода (баллон) при комнатной температуре в течение 3 ч. Затем реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного 5,5-дифтор-N-метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксамид (28B) в виде светло-желтого маслянистого вещества (164 мг, выход 98,55%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

МС m/z (ИЭР) = 220,2 $[M+H]^+$;

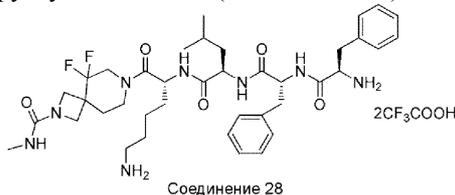
Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[5,5-дифтор-2-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (28C)



28C

Неочищенный 5,5-дифтор-N-метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксамид (28B) (164 мг, 0,75 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодимида (0,374 г, 1,95 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол (110 мг, 0,81 ммоль), промежуточное соединение 1 (565 мг, 0,75 ммоль) и дихлорметан (50 мл) последовательно добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[5,5-дифтор-2-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (28C) в виде светло-желтого твердого вещества (600 мг, выход 84%).

Стадия 4. 7-[(2R)-6-Амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-5,5-дифтор-N-метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксамид; дитрифторуксусная кислота (соединение 28)



Соединение 28

трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[5,5-дифтор-2-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (28C) (600 мг, 0,6 ммоль) и трифторуксусную кислоту (3 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H_2O ; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением 7-[(2R)-6-амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-5,5-дифтор-N-метил-2,7-дiazаспиро[3.5]-

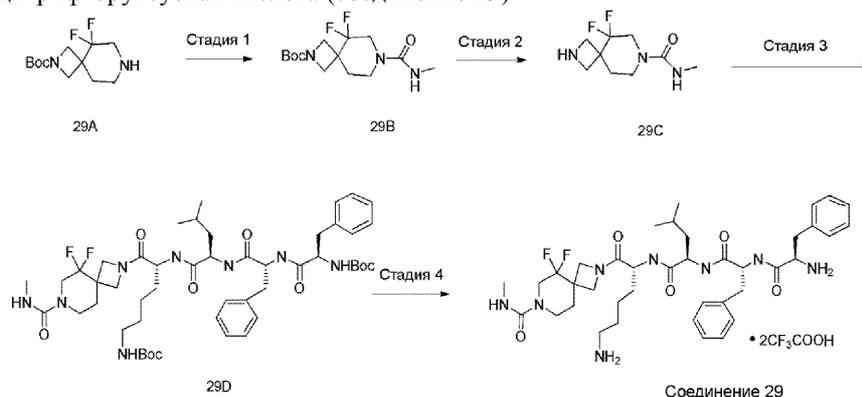
нонан-2-карбоксамид; ди-трифторуксусной кислоты (соединения 28) в виде белого порошка (100 мг, выход 13%).

МС m/z (ИЭР): 755,5 $[M+H]^+$;

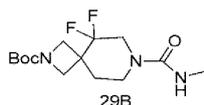
1H -ЯМР (400 МГц, D_2O) δ 7,43-7,18 (м, 10H), 4,86-4,75 (м, 1H), 4,65 (т, 1H), 4,39-4,17 (м, 2H), 4,15-4,05 (м, 2H), 4,04-3,45 (м, 6H), 3,24-3,10 (м, 2H), 3,10-2,90 (м, 4H), 2,77-2,60 (м, 3H), 2,06 (д, 2H), 1,85-1,61 (м, 4H), 1,60-1,46 (м, 3H), 1,45-1,27 (м, 2H), 0,92 (дт, 6H).

Пример 27.

2-[(2R)-6-Амино-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]-амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-5,5-дифтор-N-метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксамид; дитрифторуксусная кислота (соединение 29)

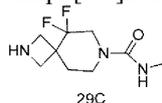


Стадия 1. трет-Бутил-5,5-дифтор-7-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (29B)



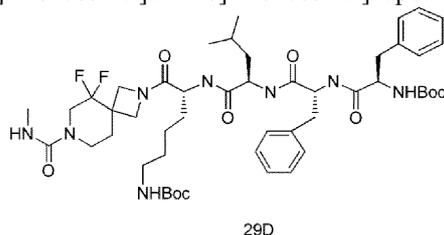
Бензил-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (16C) (113 мг, 0,43 ммоль), триэтиламин (43 мг, 0,43 ммоль) и дихлорметан (10 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и растворяли при перемешивании. После охлаждения до $-10^\circ C$ по каплям добавляли метиламиноформилхлорид (42 мг, 0,45 ммоль). После добавления реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 3 ч. В реакционный раствор добавляли 0,3 М разбавленную соляную кислоту (10 мл) и экстрагировали смесь дихлорметаном (2×5 мл). Органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением трет-бутил-5,5-дифтор-7-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилата (29B) в виде белого твердого вещества (96 мг, выход 70%).

Стадия 2. 5,5-Дифтор-N-метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксамид (29C)



трет-Бутил-5,5-дифтор-7-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (29B) (96 мг, 0,3 ммоль) и дихлорметан (8 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (2 мл). После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор непосредственно выпаривали при пониженном давлении с получением 5,5-дифтор-N-метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксамид (29C) в виде желтой маслянистой жидкости (66 мг, выход 100%), которую использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[5,5-дифтор-7-(метилкарбамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (29D)

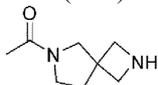


5,5-Дифтор-N-метил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксамид (29C) (66 мг, 0,3 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодимида (239 мг, 0,36 ммоль), 1-гидроксибензотриазол

Органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении. Остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 4:1) с получением трет-бутил-7-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.4]октан-2-карбоксилата (30А) в виде светло-желтого маслянистого вещества (411 мг, выход 81%).

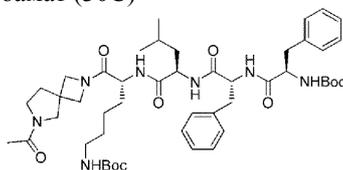
МС $m/z = 255,2 [M+H]^+$.

Стадия 2. 7-Ацетил-2,7-дiazаспиро[3.4]октан (30В)



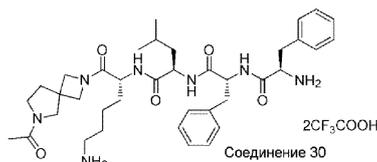
трет-Бутил-7-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.4]октан-2-карбоксилат (30А) (0,41 г, 1,62 ммоль) и дихлорметан (7 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (1 мл). После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор непосредственно выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного 7-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.4]октана (30В) в виде светло-желтой маслянистой жидкости (249 мг, выход 100%), которую использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-2-[[[(1R)-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-(7-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.4]октан-2-карбонил)-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамат (30С)



Неочищенный 7-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.4]октан (30В) (249 мг, 1,62 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (384 мг, 2 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол (270 мг, 2 ммоль), промежуточное соединение 1 (400 мг, 0,53 ммоль) и дихлорметан (30 мл) добавляли в одну горлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 1:2) с получением трет-бутил-N-[(1R)-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-(7-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.4]октан-2-карбонил)-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамата (30С) в виде белого твердого вещества (200 мг, выход 42,3%).

Стадия 4. (2R)-N-[(1R)-1-(7-Ацетил-2,7-дiazаспиро[3.4]октан-2-карбонил)-5-аминопентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамида; ди-трифторуксусная кислота (соединение 30)



трет-Бутил-N-[(1R)-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-(7-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.4]октан-2-карбонил)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамат (30С) (200 мг, 0,22 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - АСN и В - Н₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-1-(7-ацетил-2,7-дiazаспиро[3.4]октан-2-карбонил)-5-аминопентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамида; ди-трифторуксусной кислоты (соединения 30) в виде белого порошка (120 мг, выход 79,1%).

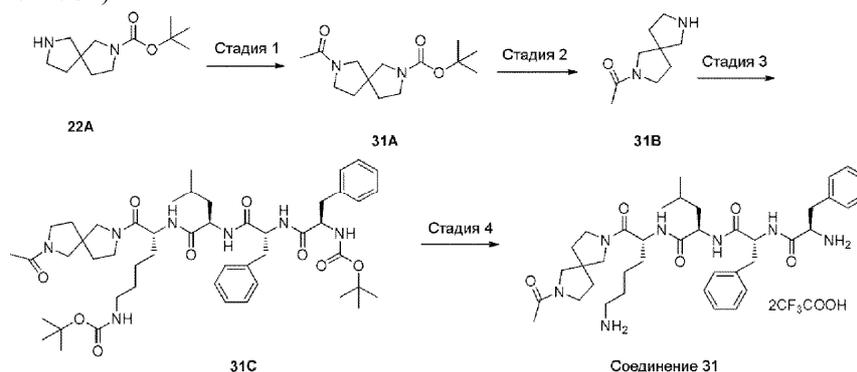
МС $m/z = 345,9 [M+2H]^{+}/2$;

¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,45-7,29 (м, 10H), 4,71 (т, 1H), 4,37-4,2 (м, 5H), 4,05-4,00 (м, 2H), 3,82-3,52 (м, 4H), 3,26-3,05 (м, 6H), 2,32-2,11 (м, 5H), 1,8-1,76 (м, 4H), 1,61-1,45 (м, 5H), 1,02-0,96 (дд, 6H).

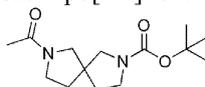
Пример 29.

(2R)-N-[(1R)-1-(7-Ацетил-2,7-дiazаспиро[4.4]нонан-2-карбонил)-5-амино-пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-

2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 31)



Стадия 1. трет-Бутил-7-ацетил-2,7-дiazаспиро[4.4]нонан-2-карбоксилат (31А)

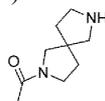


31А

2-Вос-2,7-дiazаспиро[4.4]нонан (22А) (452 мг, 2,0 ммоль), триэтиламин (400 мг, 4,0 ммоль) и дихлорметан (15 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и растворяли при перемешивании. После охлаждения до -10°C по каплям добавляли ацетилхлорид (160 мг, 2,0 ммоль). После добавления реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 4 ч. Затем в реакционный раствор добавляли 1 М разбавленную соляную кислоту (50 мл) и экстрагировали смесь дихлорметаном (2×60 мл). Органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением трет-бутил-7-ацетил-2,7-дiazаспиро[4.4]нонан-2-карбоксилата (31А) в виде светло-желтого маслянистого вещества (392 мг, выход 73%).

МС $m/z = 291,2 [M+Na]^+$.

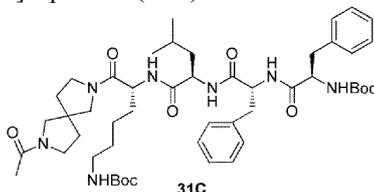
Стадия 2. 1-(2,7-Дiazаспиро[4.4]нонан-2-ил)этанон (31В)



31В

трет-Бутил-7-ацетил-2,7-дiazаспиро[4.4]нонан-2-карбоксилат (31А) (161 мг, 0,6 ммоль), дихлорметан (10 мл) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного 1-(2,7-дiazаспиро[4.4]нонан-2-ил)этанола (31В) в виде светло-желтого маслянистого вещества (100 мг, выход 99%).

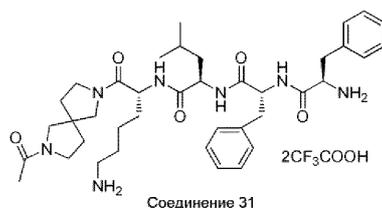
Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-2-[[[(1R)-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-(7-ацетил-2,7-дiazаспиро[4.4]нонан-2-карбонил)-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамат (31С)



31С

Неочищенный 1-(2,7-дiazаспиро[4.4]нонан-2-ил)этанон (31В) (100 мг, 0,6 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (0,288 г, 1,5 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (81 мг, 0,6 ммоль), промежуточное соединение 1 (400 мг, 0,5 ммоль) и дихлорметан (50 мл) последовательно добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 30:1) с получением трет-бутил-N-[(1R)-2-[[[(1R)-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-(7-ацетил-2,7-дiazаспиро[4.4]нонан-2-карбонил)-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамата (31С) в виде светло-желтого твердого вещества (120 мг, выход 22%).

Стадия 4. (2R)-N-[(1R)-1-(7-Ацетил-2,7-дiazаспиро[4.4]нонан-2-карбонил)-5-амино-пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 31)



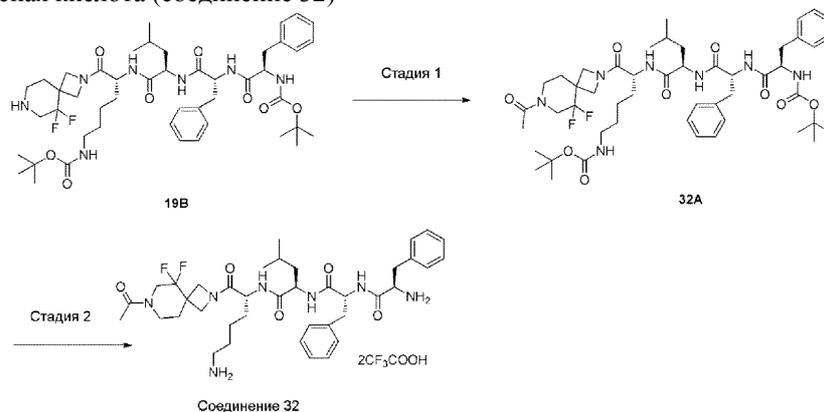
трет-Бутил-N-[(1R)-2-[[[(1R)-2-[[[(1R)-1-[(1R)-1-(7-ацетил-2,7-диазаспиро[4.4]нонан-2-карбонил)-5-(трет-бутоксикарбонил-амино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамат (31С) (120 мг, 0,22 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - АСN и В - Н₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-1-(7-ацетил-2,7-диазаспиро[4.4]нонан-2-карбонил)-5-амино-пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамида; ди-трифторуксусной кислоты (соединения 31) в виде белого порошка (77 мг, выход 85%).

МС m/z (ИЭР) = 352,7 [M+2H]⁺/2;

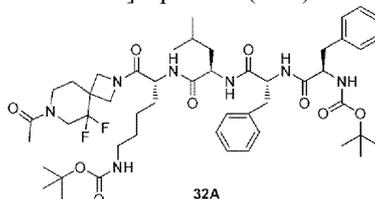
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,43-7,18 (м, 10H), 4,68-4,60 (м, 1H), 4,47-4,19 (м, 3H), 3,91-3,27 (м, 8H), 3,18 (д, 2H), 3,08-2,92 (м, 4H), 2,13-1,86 (м, 7H), 1,85-1,63 (м, 4H), 1,62-1,27 (м, 5H), 0,92 (д, 6H).

Пример 30.

(2R)-N-[(1R)-1-(7-Ацетил-5,5-дифтор-2,7-диазаспиро-[3.5]нонан-2-карбонил)-5-амино-пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамида; ди-трифторуксусная кислота (соединение 32)

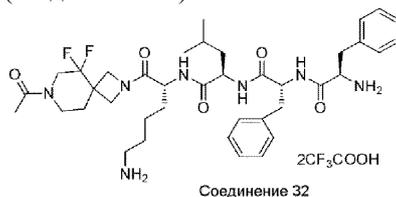


Стадия 1. трет-Бутил-N-[(1R)-2-[[[(1R)-2-[[[(1R)-1-[(1R)-1-(7-ацетил-5,5-дифтор-2,7-диазаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамат (32А)



трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(5,5-дифтор-2,7-диазаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (19В) (430 мг, 0,48 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (0,18 г, 0,94 ммоль), 1-гидроксисензотриазол (71 мг, 0,53 ммоль), уксусную кислоту (28,8 мг, 0,48 ммоль) и дихлорметан (20 мл) последовательно добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением трет-бутил-N-[(1R)-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-(7-ацетил-5,5-дифтор-2,7-диазаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамата (32А) в виде белого твердого вещества (430 мг, выход 95%).

Стадия 2. (2R)-N-[(1R)-1-(7-Ацетил-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)-5-аминопентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 32)



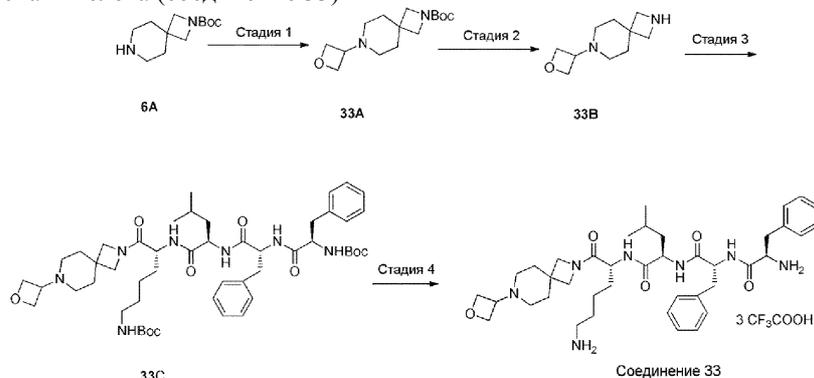
трет-Бутил-N-[(1R)-2-[[[(1R)-2-[[[(1R)-1-[(1R)-1-(7-ацетил-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамат (32A) (430 мг, 0,46 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/гла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-1-(7-ацетил-5,5-дифтор-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил)-5-аминопентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусной кислоты (соединения 32) в виде белого порошка (273 мг, выход 61%).

МС m/z (ИЭР): 370,8 [M+2H]⁺/2;

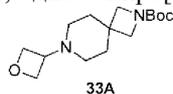
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,43-7,19 (м, 10H), 4,67-4,60 (м, 1H), 4,58-4,47 (м, 1H), 4,31-4,08 (м, 5H), 3,98-3,70 (м, 3H), 3,70-3,43 (м, 2H), 3,18 (д, 2H), 3,06-2,94 (м, 4H), 2,23-1,94 (м, 5H), 1,80-1,63 (м, 4H), 1,56-1,29 (м, 5H), 0,91 (дд, 6H).

Пример 31.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[7-(оксетан-3-ил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусная кислота (соединение 33)



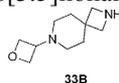
Стадия 1. трет-Бутил-7-(оксетан-3-ил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (33A)



трет-Бутил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (6A) (0,452 г, 2,0 ммоль), уксусную кислоту (0,24 г, 4,0 ммоль), 3-оксетанон (0,288 г, 4,0 ммоль), триацетоксиборогидрид натрия (1,48 г, 6,98 ммоль) и дихлорметан (20 мл) последовательно добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл. После добавления реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционный раствор фильтровали и промывали фильтрат насыщенным раствором бикарбоната натрия (50 мл). После разделения жидкой фазы органический слой сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением трет-бутил-7-(оксетан-3-ил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилата (33A) в виде белого порошка (432 мг, выход 76%).

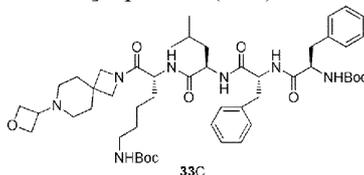
¹H-ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 4,67-4,55 (м, 4H), 3,61 (с, 4H), 3,41 (р, 1H), 2,19 (с, 4H), 1,78 (т, 4H), 1,44 (с, 9H).

Стадия 2. 7-(Оксетан-3-ил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан (33B)



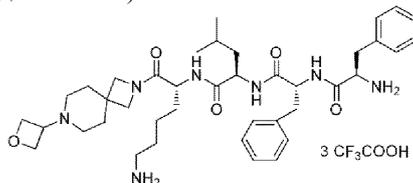
трет-Бутил-7-(оксетан-3-ил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (33A) (0,14 г, 0,5 ммоль) и дихлорметан (5 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (57 мг, 0,5 ммоль). После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор непосредственно выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного 7-(оксетан-3-ил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонана (33B) в виде желтой маслянистой жидкости (70,5 мг, выход 88%), которую использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[7-(оксетан-3-ил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (33C)



Неочищенный 7-(оксетан-3-ил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан (33B) (70,5 мг, 0,44 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (288 мг, 1,5 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (81 мг, 0,60 ммоль), промежуточное соединение 1 (330 мг, 0,44 ммоль) и дихлорметан (50 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 100 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[7-(оксетан-3-ил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (33C) в виде светло-желтого твердого вещества (400 мг, выход 99%).

Стадия 4. (2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[7-(оксетан-3-ил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусная кислота (соединение 33)



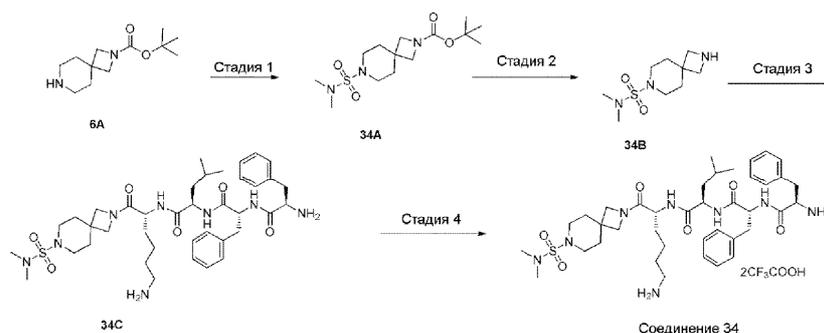
трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[7-(оксетан-3-ил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метил-ил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (33C) (400 мг, 0,40 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-[7-(оксетан-3-ил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид три-трифторуксусной кислоты (соединение 33) в виде белого порошка (160 мг, выход 56%).

МС m/z (ИЭР): 359,8 [M+2H]⁺/2;

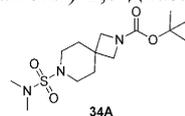
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,42-7,20 (м, 10H), 4,96 (т, 2H), 4,85 (дд, 2H), 4,66-4,56 (м, 2H), 4,48-4,35 (м, 2H), 4,30-4,10 (м, 5H), 3,84 (с, 2H), 3,43 (ш, 1H), 3,17 (д, 2H), 3,14 (с, 1H), 3,07-2,93 (м, 4H), 2,12 (ш, 4H), 1,80-1,60 (м, 4H), 1,58-1,29 (м, 5H), 0,91 (дд, 6H).

Пример 32.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[7-(диметилсульфамойл)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 34)

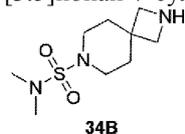


Стадия 1. трет-Бутил-7-(диметилсульфамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (34А)



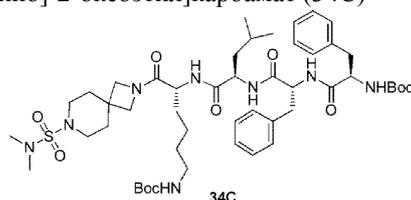
трет-Бутил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (6А) (0,452 г, 2 ммоль), триэтиламин (400 мг, 4,0 ммоль) и дихлорметан (15 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и растворяли при перемешивании. После охлаждения до -10°C по каплям добавляли диметиламиносульфонилхлорид (287 мг, 2,0 ммоль). После добавления реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение 3 ч. В реакционный раствор добавляли 3 М разбавленную соляную кислоту (50 мл), после чего экстрагировали дихлорметаном (2×60 мл). Органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного трет-бутил-7-(диметилсульфамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилата (34А) в виде светло-желтого твердого вещества (440 мг, выход 66%).

Стадия 2. N,N-Диметил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-сульфонамид (34В)



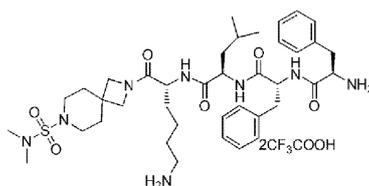
Неочищенный трет-бутил-7-(диметилсульфамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (34А) (0,22 г, 0,66 ммоль) и дихлорметан (5 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (2 мл). После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор непосредственно выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного N,N-диметил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-сульфонамида (34В) в виде желтой маслянистой жидкости (103 мг, выход 76%), которую использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[7-(диметилсульфамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (34С)



Неочищенный N,N-диметил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-сульфонамид (34В) (103 мг, 0,44 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (288 мг, 1,5 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (81 мг, 0,60 ммоль), промежуточное соединение 1 (330 мг, 0,44 ммоль) и дихлорметан (50 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 100 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[7-(диметилсульфамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (34С) в виде светло-желтого твердого вещества (240 мг, выход 56%).

Стадия 4. (2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[7-(диметилсульфамоил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 34)



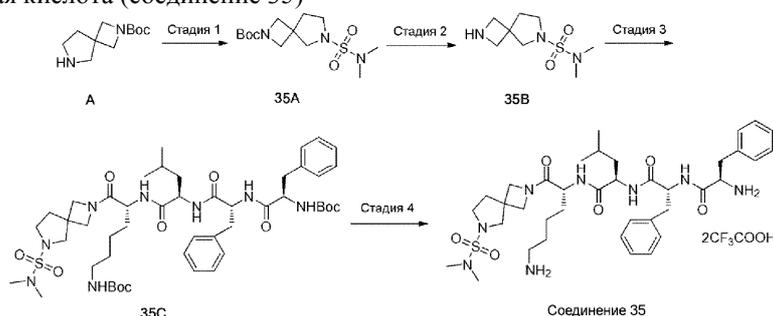
трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[7-(диметилсульфамоил)-2,7-диазаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]-амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (34С) (400 мг, 0,4 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-[7-(диметилсульфамоил)-2,7-диазаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамида ди-трифторуксусной кислоты (соединения 34) в виде белого порошка (130 мг, выход 29%).

МС m/z (ИЭР): 385,3 [M+2H]⁺/2;

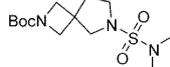
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,46-7,29 (м, 6H), 7,29-7,18 (м, 4H), 4,65 (т, 1H), 4,32-3,99 (м, 5H), 3,85-3,68 (м, 2H), 3,35-3,11 (м, 6H), 3,11-2,92 (м, 4H), 2,81 (д, 6H), 1,96-1,79 (м, 4H), 1,71 (дд, 4H), 1,60-1,32 (м, 5H), 0,93 (дд, 6H).

Пример 33.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[7-(диметилсульфамоил)-2,7-диазаспиро[3.4]октан-2-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамида ди-трифторуксусная кислота (соединение 35)



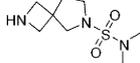
Стадия 1. трет-Бутил-7-(диметилсульфамоил)-2,7-диазаспиро[3.4]октан-2-карбоксилат (35А)



трет-Бутил-2,7-диазаспиро[3.4]октан-2-карбоксилат (А) (0,414 г, 2 ммоль), триэтиламин (420 мг, 4,0 ммоль) и дихлорметан (7 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и растворяли при перемешивании. После охлаждения до -10°C по каплям добавляли диметилсульфамоилхлорид (343 мг, 2,4 ммоль) и реакции позволяли идти в течение 10 мин. Затем температуру повышали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 ч. В реакционный раствор вливали насыщенный водный раствор бикарбоната натрия (10 мл), экстрагировали этилацетатом (3×5 мл) и объединяли органические фазы. Органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении. Остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 4:1) с получением трет-бутил-7-(диметилсульфамоил)-2,7-диазаспиро[3.4]октан-2-карбоксилата (35А) в виде светло-желтого маслянистого вещества (414 мг, выход 0,65%).

МС m/z = 320,2 [M+H]⁺;

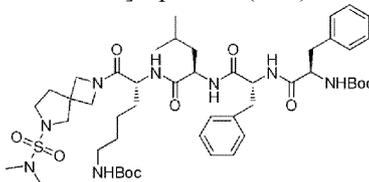
Стадия 2. 7-(Диметилсульфамоил)-2,7-диазаспиро[3.4]октан (35В)



трет-Бутил-7-(диметилсульфамоил)-2,7-диазаспиро[3.4]октан-2-карбоксилат (35А) (0,41 г, 1,3 ммоль) и дихлорметан (7 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (1 мл). После добавления системе позволяли

реагировать при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор непосредственно выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного 7-(диметилсульфамоил)-2,7-диаза Spiro[3.4]октана (35B) в виде светло-желтой маслянистой жидкости (284 мг, выход 100%), которую использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-2-[[[(1R)-2-[[[(1R)-1-[(7-диметилсульфамоил)-2,7-диаза Spiro[3.4]октан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамат (35C)



Неочищенный 7-(диметилсульфамоил)-2,7-диаза Spiro[3.4]октан (35B) (284 мг, 1,3 ммоль), гидроксид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (384 мг, 2 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (270 мг, 2 ммоль), промежуточное соединение 1 (400 мг, 0,53 ммоль) и дихлорметан (30 мл) добавляли в одностороннюю колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 1:2) с получением трет-бутил-N-[(1R)-2-[[[(1R)-1-[(1R)-1-(7-ацетил)-2,7-диаза Spiro[3.4]октан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамата (35C) в виде белого твердого вещества (201 мг, выход 39,7%).

Стадия 4. (2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[7-(диметилсульфамоил)-2,7-диаза Spiro[3.4]октан-2-карбонил]-пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 35)



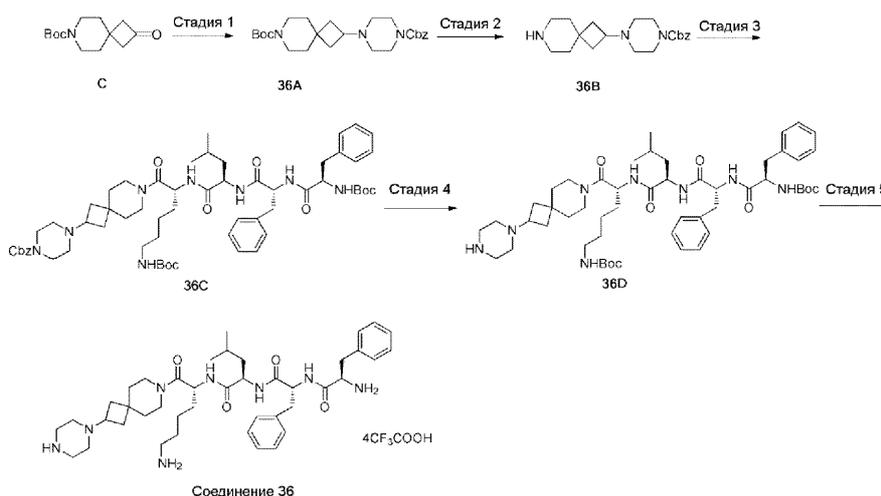
трет-Бутил-N-[(1R)-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-(7-ацетил)-2,7-диаза Spiro[3.4]октан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамат (35C) (201 мг, 0,17 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-(7-диметилсульфамоил)-2,7-диаза Spiro[3.4]октан-2-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид ди-трифторуксусной кислоты (соединения 35) в виде белого порошка (115 мг, выход 89,7%).

МС $m/z = 378,3 [M+2H]^+/2$;

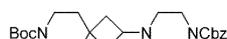
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,46-7,29 (м, 10H), 4,71 (т, 1H), 4,38-4,21 (м, 5H), 4,07-4,05 (м, 2H), 3,60-3,46 (м, 4H), 3,23-3,05 (м, 6H), 2,9-2,89 (д, 6H), 2,32-2,26 (м, 2H) 1,8-1,59 (м, 9H), 1,02-0,96 (дд, 6H).

Пример 34.

(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-Амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-N-[(1R)-5-амино-1-(2-пиперазин-1-ил-7-аза Spiro[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-4-метилпентанамид; тетра-трифторуксусная кислота (соединение 36)



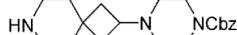
Стадия 1. трет-Бутил-2-(4-бензилоксикарбонилпиперазин-1-ил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (36А)



трет-Бутил-2-оксо-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (С) (0,478 г, 2 ммоль), бензил-1-пиперазинкарбонат (440 мг, 2 ммоль), уксусную кислоту (120 мг, 2,0 ммоль) и дихлорэтан (7 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и перемешивали систему в течение получаса. Добавляли триацетоксиборгидрид натрия (0,636 г, 3 ммоль) и полученную смесь подвергали реакции в течение 5 ч. В реакционную систему вливали воду (10 мл), экстрагировали этилацетатом (3×5 мл) и объединяли органические фазы. Органические фазы сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали фильтрат при пониженном давлении. Остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 4:1) с получением трет-бутил-2-(4-бензилоксикарбонилпиперазин-1-ил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (36А) в виде светло-желтого маслянистого вещества (450 мг, выход 50,79%).

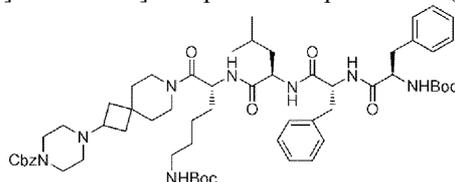
МС $m/z = 444,2 [M+H]^+$;

Стадия 2. Бензил-4-(7-азаспиро[3.5]нонан-2-ил)пиперазин-1-карбоксилат (36В)



трет-Бутил-2-(4-бензилоксикарбонилпиперазин-1-ил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (36А) (0,45 г, 1,20 ммоль) и дихлорметан (7 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (1 мл). После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор непосредственно выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного бензил-4-(7-азаспиро[3.5]нонан-2-ил)пиперазин-1-карбоксилата (36В) в виде светло-желтой маслянистой жидкости (411 мг, выход 100%), которую использовали непосредственно в следующей реакции.

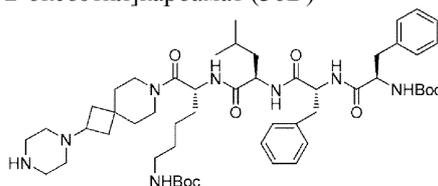
Стадия 3. Бензил-4-[7-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]-амино]гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-ил]пиперазин-1-карбоксилат (36С)



Неочищенный бензил-4-(7-азаспиро[3.5]нонан-2-ил)пиперазин-1-карбоксилат (36В) (411 мг, 1,2 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (384 мг, 2 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (270 мг, 2 ммоль), промежуточное соединение 1 (400 мг, 0,53 ммоль) и дихлорметан (30 мл) добавляли в однокорюлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 1:2) с получением бензил-4-[7-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-ил]пиперазин-1-карбоксилата (36С) в виде белого твердого вещества (300 мг, выход 52,4%).

Стадия 4. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(2-пиперазин-1-ил)-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метил-

бутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (36D)



Бензил-4-[7-[(2R)-6-(трет-бутоксикарбониламино)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпроаноил]амино]-3-фенилпроаноил]амино]-4-метилпентаноил]амино]-гексаноил]-7-азаспиро[3.5]нонан-2-ил]пиперазин-1-карбоксилат (36C) (300 мг, 0,27 ммоль), метанол (5 мл) и Pd/C (30 мг) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 4 ч под атмосферой водорода. Реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали при пониженном давлении с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(2-пиперазин-1-ил-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (36D) (255 мг, 100%), который использовали непосредственно в следующей стадии.

Стадия 5. (2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-Амино-3-фенилпроаноил]амино]-3-фенилпроаноил]амино]-N-[(1R)-5-амино-1-(2-пиперазин-1-ил-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-4-метилпентанамид тетра-трифторуксусной кислоты (соединение 36)



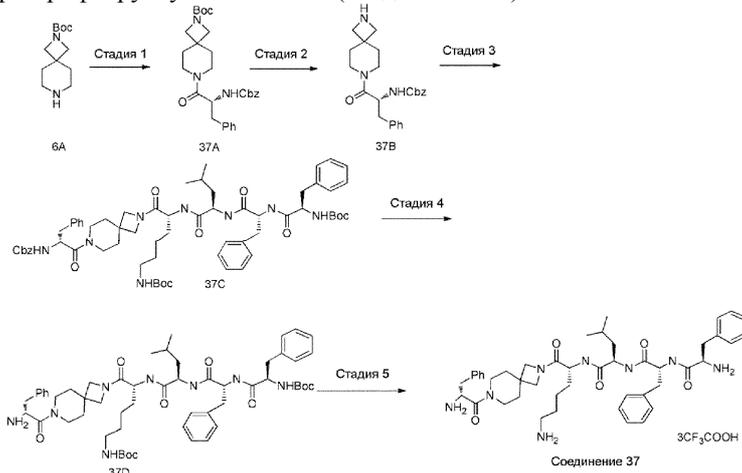
Неочищенный трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(2-пиперазин-1-ил-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (36D) (255 мг, 0,27 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - АСН и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпроаноил]амино]-3-фенилпроаноил]амино]-N-[(1R)-5-амино-1-(2-пиперазин-1-ил-7-азаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-4-метилпентанамид тетра-трифторуксусной кислоты (соединения 36) в виде белого порошка (160 мг, выход 77,6%).

МС $m/z = 373,4 [M+2H]^+/2$;

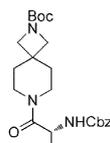
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,47-7,30 (м, 10H), 4,71 (т, 1H), 4,36-4,29 (м, 2H), 3,90-3,86 (м, 1H), 3,85-3,24 (м, 12H), 3,23-3,04 (м, 6H), 2,52-2,44 (м, 2H), 2,14-2,12 (м, 2H), 1,77-1,47 (м, 14H), 1,03-0,96 (дд, 6H).

Пример 35.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[7-[(2R)-2-амино-3-фенилпроаноил]-2,7-диазаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпроаноил]амино]-3-фенилпроаноил]амино]-4-метилпентанамид, три-трифторуксусная кислота (соединение 37)



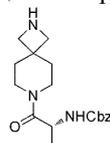
Стадия 1. трет-Бутил-7-[(2R)-2-(бензилоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (37A)



37A

трет-Бутил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (6A) (83 мг, 0,35 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (80 мг, 0,42 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (57 мг, 0,42 ммоль), (2R)-2-(бензилоксикарбониламино)-3-фенилпропановую кислоту (105 мг, 0,35 ммоль) и дихлорметан (30 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением трет-бутил-7-[(2R)-2-(бензилоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилата (37A) в виде белого твердого вещества (177 мг, выход 80%).

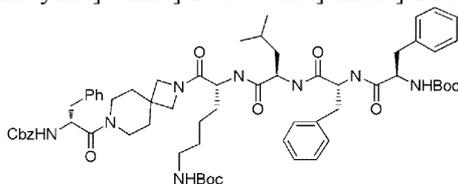
Стадия 2. Бензил-N-[(1R)-1-бензил-2-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-ил)-2-оксоэтил]карбамат (37B)



37B

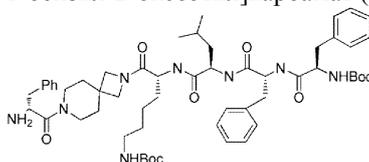
трет-Бутил-7-[(2R)-2-(бензилоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (37A) (177 мг, 0,35 ммоль) и дихлорметан (20 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (2 мл). После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор непосредственно выпаривали при пониженном давлении с получением бензил-N-[(1R)-1-бензил-2-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-ил)-2-оксоэтил]карбамата (37B) в виде желтой маслянистой жидкости (143 мг, выход 100%), которую использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-[7-[(2R)-2-(бензилоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбонил-амино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (37C)



Бензил-N-[(1R)-1-бензил-2-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-ил)-2-оксоэтил]карбамат (37B) (143 мг, 0,35 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (80 мг, 0,42 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (57 мг, 0,42 ммоль), промежуточное соединение 1 (264 мг, 0,35 ммоль) и дихлорметан (30 мл) добавляли в одну колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением трет-бутил-(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-[7-[(2R)-2-(бензилоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (37C) в виде белого твердого вещества (400 мг, выход 99%).

Стадия 4. трет-Бутил-N-[(1R)-2-[[[(1R)-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-[7-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамат (37D)



трет-Бутил-(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-[7-[(2R)-2-(бензилоксикарбонил-амино)-3-фенилпропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбониламино)-

пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (37C) (400 мг, 0,35 ммоль), палладий на угле (80 мг, 20 вес.%) и метанол (20 мл) добавляли в однокорную колбу объемом 50 мл. Атмосферу заменяли водородом 3 раза и смесь подвергали реакции при комнатной температуре в течение 3 ч под атмосферой водорода (баллон). Реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного трет-бутил-(1R)-2-[[[(1R)-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-[7-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамата (37D) в виде светло-желтого твердого вещества (353 мг, выход 100%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 5. (2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[7-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамида три-трифторуксусная кислота (соединение 37)



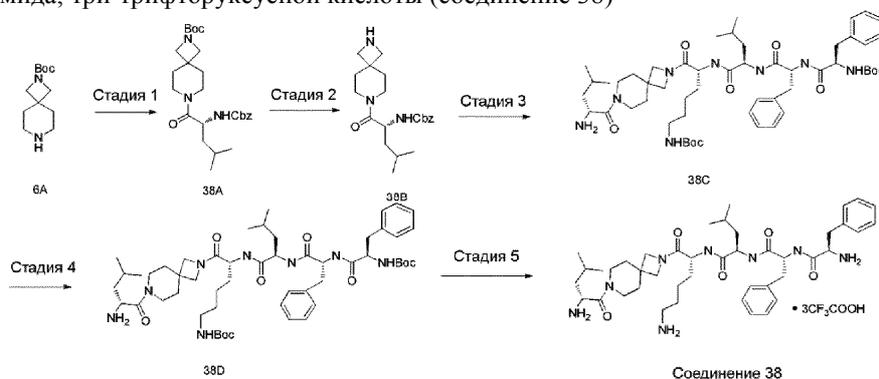
трет-Бутил-(1R)-2-[[[(1R)-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-1-[7-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамат (37D) (353 мг, 0,35 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-[7-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамида; три-трифторуксусной кислоты (соединения 37) в виде белого порошка (282 мг, выход 70%).

МС m/z = 405,3 [M+2H]⁺/2;

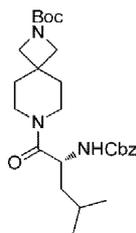
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,52-7,09 (м, 15H), 4,78-4,74 (м, 1H), 4,64-4,58 (м, 1H), 4,26-4,19 (м, 2H), 4,15-3,96 (м, 3H), 3,83 (д, 1H), 3,71-3,63 (м, 1H), 3,59-3,50 (м, 1H) 3,43-2,90 (м, 11H), 1,90-1,18 (м, 13H), 0,98-0,80 (м, 6H).

Пример 36.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[7-[(2R)-2-амино-4-метилпентаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамида; три-трифторуксусной кислоты (соединение 38)



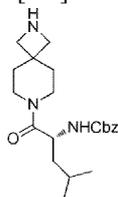
Стадия 1. трет-Бутил-7-[(2R)-2-(бензилоксикарбониламино)-4-метилпентаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (38A)



38A

трет-Бутил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (6A) (93 мг, 0,41 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (94 мг, 0,49 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (66 мг, 0,49 ммоль), (2R)-2-(бензилоксикарбониламино)пропановую кислоту (446 мг, 2,0 ммоль) и дихлорметан (10 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением трет-бутил-7-[(2R)-2-(бензилоксикарбониламино)-4-метилпентаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилата (38A) в виде белого твердого вещества (175 мг, выход 90%).

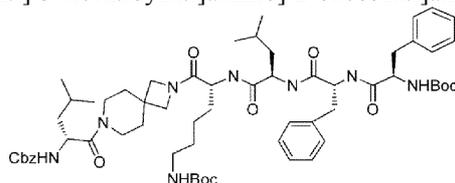
Стадия 2. Бензил-N-[(1R)-1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)-3-метилбутил]карбамат (38B)



38B

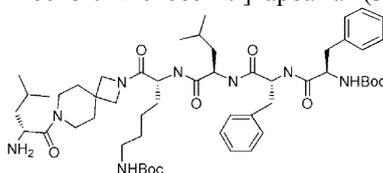
трет-Бутил-7-[(2R)-2-(бензилоксикарбониламино)-4-метилпентаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (38A) (175 мг, 0,37 ммоль) и дихлорметан (20 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (2 мл). После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор непосредственно выпаривали при пониженном давлении с получением бензил-N-[(1R)-1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)-3-метилбутил]карбамата (38B) в виде желтой маслянистой жидкости (138 мг, выход 100%), которую использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[(1R)-1-[7-[(2R)-2-(бензилоксикарбониламино)-4-метилпентаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (38C)



Бензил-N-[(1R)-1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)-3-метилбутил]карбамат (38B) (138 мг, 0,37 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (84 мг, 0,44 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (59 мг, 0,44 ммоль), промежуточное соединение 1 (279 мг, 0,37 ммоль) и дихлорметан (30 мл) добавляли в одногорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением трет-бутил-(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[(1R)-1-[7-[(2R)-2-(бензилоксикарбониламино)-4-метилпентаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (38C) в виде белого твердого вещества (366 мг, выход 90%).

Стадия 4. трет-Бутил-N-[(1R)-2-[(1R)-2-[(1R)-1-[(1R)-1-[7-[(2R)-2-амино-4-метилпентаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбониламино)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]-амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамат (38D)



трет-Бутил-(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[(1R)-1-[7-[(2R)-2-(бензилоксикарбонил-

амино)-4-метилпентаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбонил)аминопентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (38C) (366 мг, 0,33 ммоль), палладий на угле (73 мг, 20 вес.%) и метанол (20 мл) добавляли в однокорную колбу объемом 50 мл. Атмосферу заменяли водородом 3 раза и смесь подвергали реакции при комнатной температуре в течение 3 ч под атмосферой водорода. Реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного (1R)-2-[(1R)-2-[(1R)-1-[(1R)-1-[7-[(2R)-2-амино-4-метилпентаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]трет-бутилкарбамата (38D) в виде светло-желтого твердого вещества (322 мг, выход 100%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 5. (2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[7-[(2R)-2-амино-4-метилпентаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-2-[(2R)-2-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусная кислота (соединение 38)



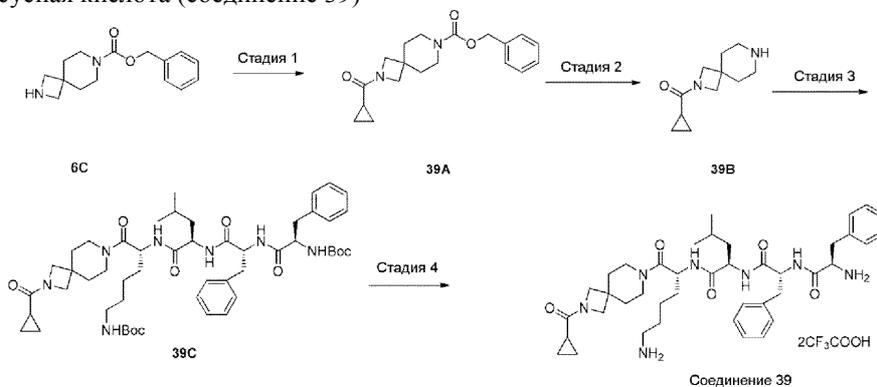
трет-Бутил-(1R)-2-[(1R)-2-[(1R)-1-[(1R)-1-[7-[(2R)-2-амино-4-метилпентаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]-5-(трет-бутоксикарбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]амино]-1-бензил-2-оксоэтил]карбамат (38D) (322 мг, 0,33 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-[7-[(2R)-2-амино-4-метилпентаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-2-[(2R)-2-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусной кислоты (соединения 38) в виде белого порошка (240 мг, выход 65%).

МС $m/z = 388,3 [M+2H]^+/2$;

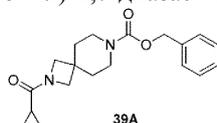
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,44-7,14 (м, 10H), 4,61 (т, 1H), 4,50-4,42 (м, 1H), 4,28-4,02 (м, 5H), 3,83-3,70 (м, 2H), 3,66-3,36 (м, 4H), 3,14 (т, 2H), 2,97 (т, 4H), 1,94-1,64 (м, 10H), 1,54-1,30 (м, 6H), 1,01-0,81 (м, 12H).

Пример 37.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[2-(циклопропанкарбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-2-[(2R)-2-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 39)



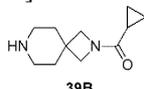
Стадия 1. Бензил-2-(циклопропанкарбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (39A)



Бензил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (6C) (390 мг, 1,5 ммоль), гидроклорид

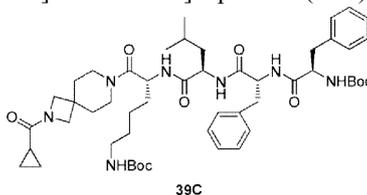
1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (760 мг, 4,9 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол (300 мг, 2,0 ммоль), циклопропилкарбовую кислоту (172 мг, 2,0 ммоль) и дихлорметан (50 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением бензил-2-(циклопропанкарбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (39A) в виде светло-желтого маслянистого вещества (320 мг, выход 65%).

Стадия 2. Циклопропил(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)метанон (39B)



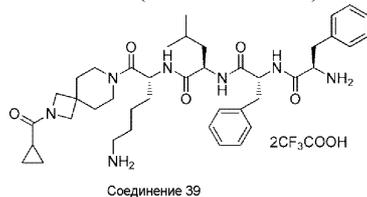
Бензил-2-(циклопропанкарбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (39A) (320 мг, 0,97 ммоль), палладий на угле (64 мг, 20 вес.%) и метанол (10 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл. Атмосферу заменяли водородом 3 раза и проводили реакцию при комнатной температуре в течение 3 ч под атмосферой водорода (баллон). Реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного циклопропил(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)метанона (39B) в виде светло-желтого твердого вещества (189 мг, выход 100%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(циклопропанкарбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (39C)



Неочищенный циклопропил(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)метанон (39B) (189 мг, 0,75 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (216 мг, 1,13 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол (122 мг, 0,9 ммоль), промежуточное соединение 1 (565 мг, 0,75 ммоль) и дихлорметан (30 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 1:2) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(циклопропанкарбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (39C) в виде светло-желтого твердого вещества (410 мг, выход 45%).

Стадия 4. (2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[2-(циклопропанкарбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-2-[(2R)-2-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 39)



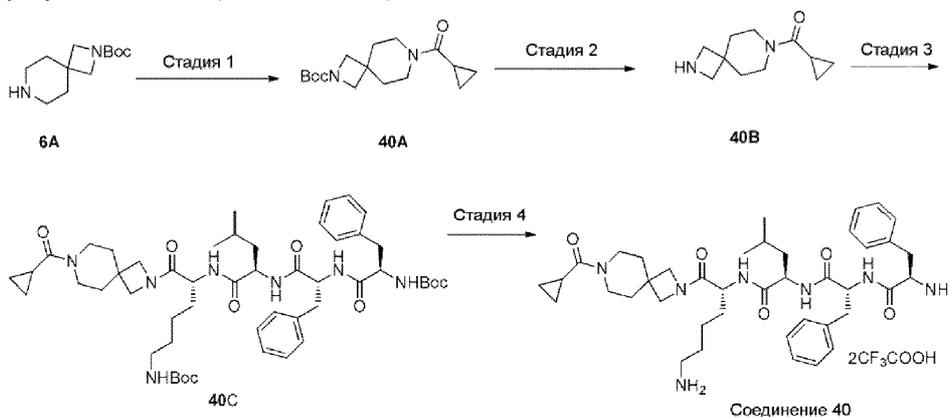
трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(циклопропанкарбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (39C) (410 мг, 0,44 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-[2-(циклопропанкарбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-2-[(2R)-2-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусной кислоты (соединения 39) в виде белого порошка (330 мг, выход 78%).

МС $m/z = 365,8 [M+2H]^+/2$;

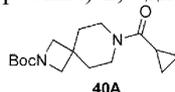
^1H -ЯМР (400 МГц, D_2O) δ 7,45-7,18 (м, 10H), 4,66 (т, 1H), 4,26 (дт, 2H), 4,13 (д, 2H), 3,78 (д, 2H), 3,71-3,61 (м, 2H), 3,56-3,45 (м, 1H), 3,42-3,31 (м, 1H), 3,18 (д, 2H), 3,10-2,93 (м, 4H), 1,99-1,30 (м, 15H), 1,01-0,77 (м, 10H).

Пример 38.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[7-(циклопропанкарбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 40)



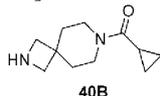
Стадия 1. трет-Бутил-7-(циклопропанкарбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (40А)



трет-Бутил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (6А) (0,453 г, 2,0 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (767 мг, 4,0 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол (324 мг, 2,4 ммоль), циклопропилкарбовую кислоту (176 мг, 2,2 ммоль) и дихлорметан (50 мл) добавляли в однокорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением трет-бутил-7-(циклопропанкарбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилата (40А) в виде светлого маслянистого вещества (590 мг, выход 96%).

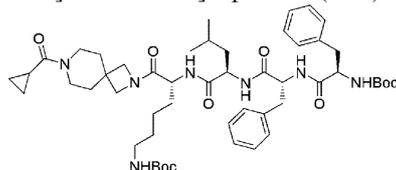
^1H -ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 3,68 (с, 4H), 3,62-3,52 (м, 4H), 1,81-1,69 (м, 5H), 1,45 (с, 9H), 1,00-0,93 (м, 2H), 0,78-0,71 (м, 2H).

Стадия 2. Циклопропил(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-ил)метанон (40В)



трет-Бутил-7-(циклопропанкарбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбоксилат (40А) (0,25 г, 0,83 ммоль) и дихлорметан (7 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и по каплям при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (1 мл). После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционный раствор непосредственно выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного циклопропил(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-ил)метанона (40В) в виде желтой маслянистой жидкости (161 мг, выход 100%), которую использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[7-(циклопропанкарбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (40С)



Неочищенный (2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-ил)метанон (40В) (0,16 г, 0,83 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (239 мг, 1,25 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол (135 мг, 1,0 ммоль), промежуточное соединение 1 (625 мг, 0,83 ммоль) и дихлорметан (50 мл) добавляли в однокорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением

трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[7-(циклопропанкарбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]-пентил]карбамоил]-3-метилбутил]-амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (40C) в виде светло-желтого твердого вещества (700 мг, выход 90%).

Стадия 4. (2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[7-(циклопропанкарбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 40)



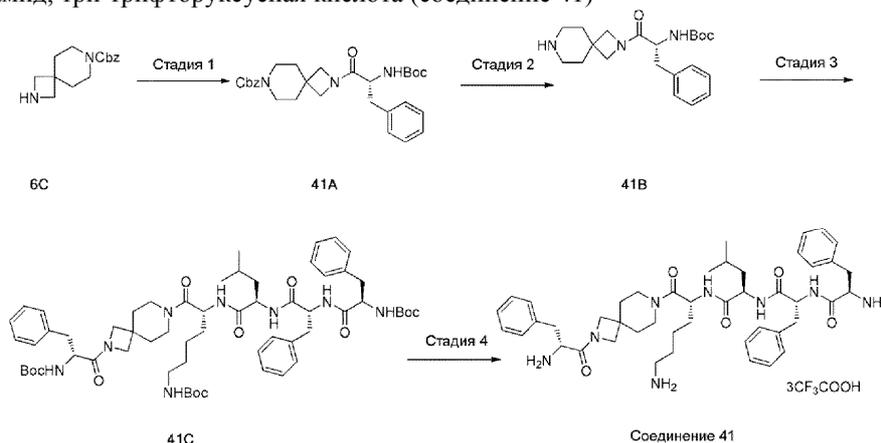
трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[7-(циклопропанкарбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]-амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (40C) (700 мг, 0,75 ммоль) и трифторуксусную кислоту (3 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр.диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - АСN и В - Н₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-[7-(циклопропанкарбонил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид ди-трифторуксусной кислоты (соединения 40) в виде белого порошка (200 мг, выход 28%).

МС $m/z = 365,8 [M+2H]^+/2$;

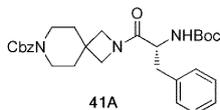
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,40-7,17 (м, 10H), 4,62 (т, 1H), 4,32-4,00 (м, 5H), 3,82-3,60 (м, 4H), 3,48 (ш, 2H), 3,23-3,08 (м, 2H), 3,07-2,91 (м, 4H), 2,01-1,61 (м, 9H), 1,58-1,27 (м, 5H), 0,97-0,67 (м, 10H).

Пример 39.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусная кислота (соединение 41)



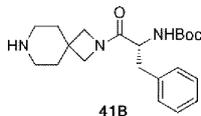
Стадия 1. Бензил-2-[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (41A)



Бензил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (6C) (390 мг, 1,5 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодимида (760 мг, 4,9 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (300 мг, 2,0 ммоль), Вос-D-фенилаланин (530 мг, 2,0 ммоль) и дихлорметан (50 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением бензил-2-

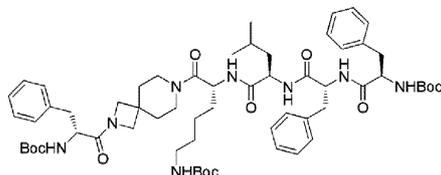
[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (41A) в виде белого твердого вещества (514 мг, 67% выход).

Стадия 2. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)-2-оксоэтил]карбамат (41B)



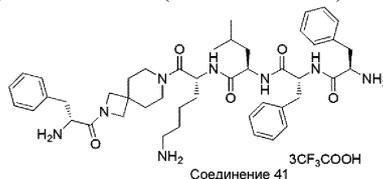
Бензил-2-[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (41A) (514 мг, 1,01 ммоль), палладий на угле (100 мг, 20 вес.%) и метанол (20 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл. Атмосферу заменяли водородом 3 раза и смесь подвергали реакции при комнатной температуре в течение 3 ч под атмосферой водорода (баллон). Реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)-2-оксоэтил]карбамата (41B) в виде светло-желтого твердого вещества (377 мг, выход 100%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-1-[2-[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (41C)



Неочищенный трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)-2-оксоэтил]карбамат (41B) (377 мг, 1,01 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодимида (290 мг, 1,52 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (164 мг, 1,21 ммоль), промежуточное соединение 1 (761 мг, 1,01 ммоль) и дихлорметан (30 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат (об.:об.) = 1:2) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-1-[2-[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (41C) в виде светло-желтого твердого вещества (410 мг, 36,6% выход).

Стадия 4. (2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-1-[2-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-2-[(2R)-2-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид; три-трифторуксусная кислота (соединение 41)



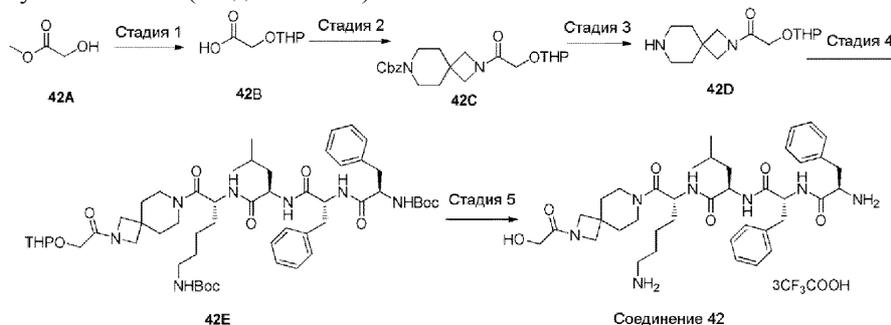
трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-1-[2-[(2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-фенилпропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (41C) (410 мг, 0,37 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-1-[2-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-2-[(2R)-2-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамида три-трифторуксусной кислоты (соединения 41) в виде белого порошка (298 мг, выход 70%).

МС m/z = 405,4 [M+2H]⁺/2;

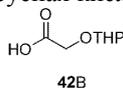
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,52-7,28 (м, 11H), 7,28-7,20 (м, 4H), 4,67-4,62 (м, 1H), 4,32-4,15 (м, 3H), 3,85-3,38 (м, 6H), 3,37-3,22 (м, 2H), 3,22-3,13 (м, 2H), 3,12-2,90 (м, 6H), 2,65 (дд, 1H), 1,83-1,48 (м, 9H), 1,47-1,28 (м, 3H), 1,25-1,11 (м, 1H), 0,92 (дд, 6H).

Пример 40.

(2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[2-(2-гидроксиацетил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид, ди-трифторуксусная кислота (соединение 42)



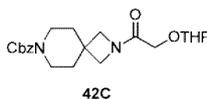
Стадия 1. 2-Тетрагидропиран-2-илоксиуксусная кислота (42B)



3,4-Дигидро-2H-пиран (840 мг, 10 ммоль), метилгликолят (42A) (900 мг, 10 ммоль), моногидрат п-толуолсульфоновой кислоты (100 мг, 0,5 ммоль) и дихлорметан (100 мл) последовательно добавляли в одnogорлую колбу объемом 250 мл. После добавления системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении и к остатку добавляли раствор гидроксида лития (смешанный раствор в 75 мл метанола+25 мл воды). После добавления реакции позволяли идти при комнатной температуре в течение ночи. В реакционный раствор по каплям добавляли 0,1 М разбавленную соляную кислоту (12 мл), при этом pH реакционного раствора при измерении составил 2-3. Реакционный раствор экстрагировали дихлорметаном (2×100 мл), органический слой сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали на вакуумном фильтре и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением 2-тетрагидропиран-2-илоксиуксусной кислоты (42B) в виде светло-желтого маслянистого вещества (510 мг, выход 30%).

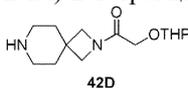
МС m/z = 183,1 [M+Na]⁺;

Стадия 2. Бензил-2-(2-(тетрагидропиран-2-илоксиацетил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (42C)



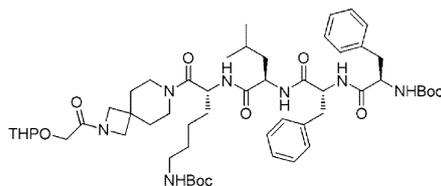
2-Тетрагидропиран-2-илоксиуксусную кислоту (42B) (510 мг, 3,2 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодимида (1,2 г, 6,3 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (516 мг, 3,82 ммоль), бензил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (6C) (830 мг, 3,2 ммоль) и дихлорметан (50 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением бензил-2-(2-(тетрагидропиран-2-илоксиацетил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (42C) в виде светло-желтого твердого вещества (580 мг, выход 45%).

Стадия 3. 1-(2,7-Дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)-2-тетрагидропиран-2-илоксиэтанон (42D)



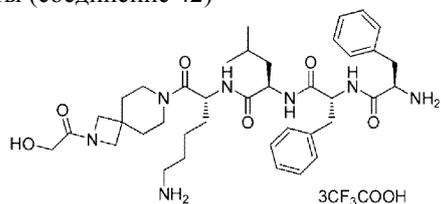
Бензил-2-(2-(тетрагидропиран-2-илоксиацетил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (42C) (580 мг, 1,4 ммоль), палладий на угле (120 мг, 20 вес.%) и метанол (20 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл. Атмосферу заменяли водородом 3 раза и смесь подвергали реакции при комнатной температуре в течение 3 ч под атмосферой водорода (баллон). Реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного 1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)-2-тетрагидропиран-2-илоксиэтанола (42D) в виде светло-желтого твердого вещества (387 мг, выход 100%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 4. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(2-тетрагидропиран-2-илоксиацетил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]-пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (42E)



Неочищенный 1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)-2-тетрагидропиран-2-илокси-этанон (42D) (387 мг, 1,4 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (553 мг, 2,88 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол (233 мг, 1,72 ммоль), промежуточное соединение 1 (1,09 г, 1,45 ммоль) и дихлорметан (50 мл) добавляли в одногорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(2-тетрагидропиран-2-илоксиацетил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (42E) в виде светло-желтого твердого вещества (590 мг, выход 41%).

Стадия 5. (2R)-N-[(1R)-5-Амино-1-[2-(2-гидроксиэтил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид ди-трифторуксусной кислоты (соединение 42)



Соединение 42

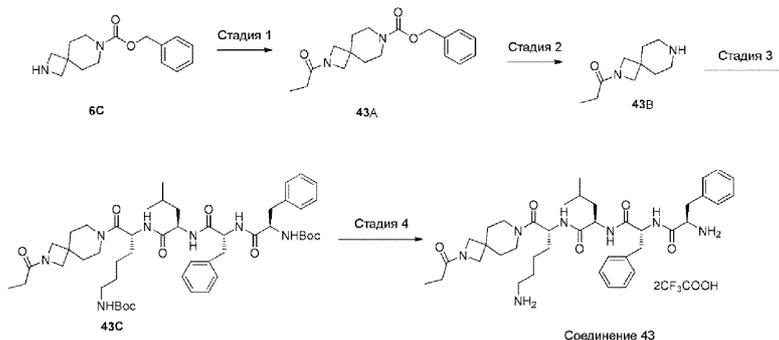
трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(2-тетрагидропиран-2-илоксиацетил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (42E) (590 мг, 0,59 ммоль) и трифторуксусную кислоту (4 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - АСN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-N-[(1R)-5-амино-1-[2-(2-гидроксиэтил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-4-метилпентанамид ди-трифторуксусной кислоты (соединения 42) в виде белого порошка (286 мг, выход 67%).

МС $m/z = 720,3 [M+H]^+$;

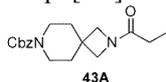
¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,44-7,29 (м, 6H), 7,24 (д, 4H), 4,66 (т, 1H), 4,34-4,20 (м, 2H), 4,14 (д, 2H), 4,02 (д, 2H), 3,83 (д, 2H), 3,72-3,60 (м, 2H), 3,56-3,42 (м, 1H), 3,42-3,30 (м, 1H), 3,18 (д, 2H), 3,10-2,94 (м, 4H), 1,96-1,29 (м, 14H), 0,92 (дд, 6H).

Пример 41.

(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-Амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-N-[(1R)-5-амино-1-(2-пропаноил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 43)

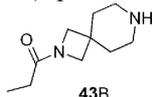


Стадия 1. Бензил-2-пропаноил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (43A)



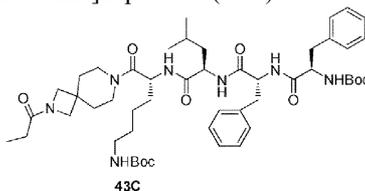
Бензил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (6C) (390 мг, 1,5 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (575 мг, 3,0 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (243 мг, 1,80 ммоль), пропионовую кислоту (122 мг, 1,65 ммоль) и дихлорметан (50 мл) добавляли в однугорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением бензил-2-пропаноил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (43A) в виде светло-желтого твердого вещества (245 мг, выход 52%).

Стадия 2. 1-(2,7-Дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)пропан-1-он (43B)



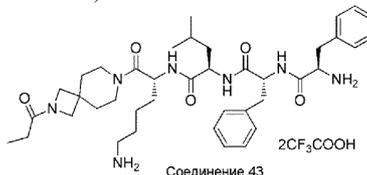
Бензил-2-пропаноил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (43A) (245 мг, 0,775 ммоль), палладий на угле (49 мг, 20 вес.%) и метанол (20 мл) добавляли в однугорлую колбу объемом 50 мл. Атмосферу заменяли водородом 3 раза и смесь подвергали реакции при комнатной температуре в течение 3 ч под атмосферой водорода. Реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного 1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)пропан-1-она (43B) в виде светло-желтого твердого вещества (141 мг, выход 99,8%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(2-пропаноил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метил-бутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (43C)



Неочищенный 1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)пропан-1-он (43B) (141 мг, 0,774 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (383 мг, 2,0 ммоль), 1-гидроксибензотриазол (135 мг, 1,0 ммоль), промежуточное соединение 1 (0,565 г, 0,75 ммоль) и дихлорметан (50 мл) добавляли в однугорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(2-пропаноил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (43C) в виде светло-желтого твердого вещества (500 мг, выход 72,7%).

Стадия 4. (2R)-2-[(2R)-2-[(2R)-2-Амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-N-[(1R)-5-амино-1-(2-пропаноил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 43)



трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-бензил-2-[(1R)-1-[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-(2-пропаноил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (43C) (260 мг, 0,28 ммоль) и трифторуксусную кислоту (1,3 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - АСN и В - Н₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводный объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-2-[(2R)-2-[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-N-[(1R)-5-амино-1-(2-

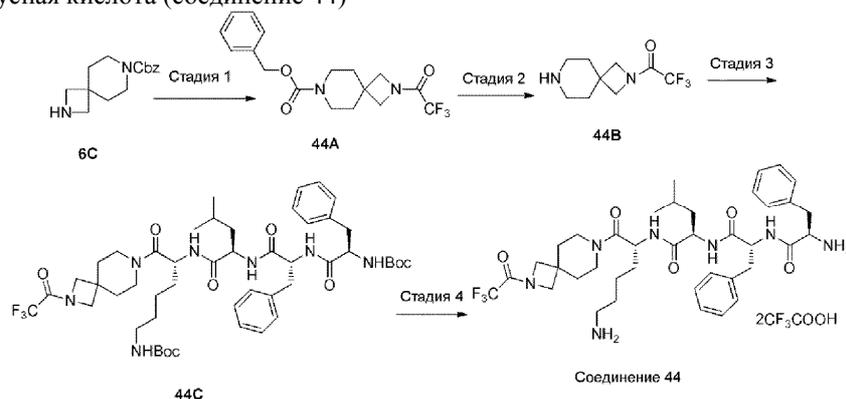
пропаноил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил)пентил]-4-метилпентанамида ди-трифторуксусной кислоты (соединения 43) в виде белого порошка (125 мг, выход 51%).

МС $m/z = 359,8 [M+2H]^+/2$;

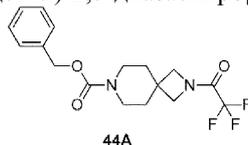
$^1\text{H-NMR}$ (400 МГц, D_2O) δ 7,45-7,28 (м, 6H), 7,24 (д, 4H), 4,80-4,75 (м, 1H) 4,66 (т, 1H), 4,29 (т, 1H), 4,27 (т, 1H), 4,01 (д, 2H), 3,77 (д, 2H), 3,71-3,60 (м, 2H), 3,55-3,42 (м, 1H), 3,41-3,27 (м, 1H), 3,18 (дд, 2H), 3,11-2,93 (м, 4H), 2,19 (в сутки, 2H), 1,95-1,63 (м, 8H), 1,61-1,49 (м, 3H), 1,48-1,30 (м, 2H), 1,07 (тд, 3H), 0,92 (дд, 6H).

Пример 42.

(2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-Амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-N-[(1R)-5-амино-1-[2-(2,2,2-трифторацетил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-4-метилпентанамида; ди-трифторуксусная кислота (соединение 44)

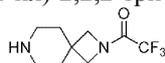


Стадия 1. Бензил-2-(2,2,2-трифторацетил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (44A)



Бензил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (6C) (390 мг, 1,5 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодимида (575 мг, 3,0 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол (243 мг, 1,80 ммоль), трифторуксусную кислоту (171 мг, 1,5 ммоль) и дихлорметан (50 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением бензил-2-(2,2,2-трифторацетил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (44A) в виде светло-желтого твердого вещества (224 мг, выход 63%).

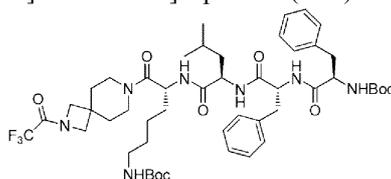
Стадия 2. 1-(2,7-Дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)-2,2,2-трифторэтанон (44B)



44B

Бензил-2-(2,2,2-трифторацетил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилат (44A) (223 мг, 0,63 ммоль), палладий на угле (46 мг, 20 вес.%) и метанол (20 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл. Атмосферу заменяли водородом 3 раза и смесь подвергали реакции при комнатной температуре в течение 3 ч под атмосферой водорода (баллон). Реакционный раствор фильтровали через диатомит и выпаривали фильтрат при пониженном давлении с получением неочищенного 1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)-2,2,2-трифторэтанона (44B) в виде светло-желтого твердого вещества (116 мг, выход 83%), которое использовали непосредственно в следующей реакции.

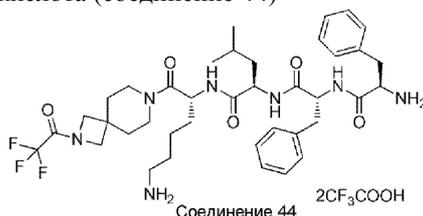
Стадия 3. трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(2,2,2-трифтор-ацетил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (44C)



Неочищенный 1-(2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)-2,2,2-трифторэтанон (44B) (116 мг, 0,52 ммоль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодимида (575 мг, 3,7 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол (240 мг, 1,3 ммоль), промежуточное соединение 1 (0,47 г, 0,626 ммоль) и дихлорметан (50 мл) добавляли в одnogорлую колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной

температуре в течение 5 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (дихлорметан:метанол (об.:об.) = 50:1) с получением трет-бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(2,2,2-трифторацетил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-карбамоил]-3-метилбутил]амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамата (44С) в виде светло-желтого твердого вещества (216 мг, выход 42%).

Стадия 4. (2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-Амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]амино]-N-[(1R)-5-амино-1-[2-(2,2,2-трифтор-ацетил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-4-метилпентанамид; ди-трифторуксусная кислота (соединение 44)



трет-Бутил-N-[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-бензил-2-[[[(1R)-1-[[[(1R)-5-(трет-бутоксикарбониламино)-1-[2-(2,2,2-трифторацетил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]карбамоил]-3-метилбутил]-амино]-2-оксоэтил]амино]-2-оксоэтил]карбамат (44С) (210 мг, 0,22 ммоль) и трифторуксусную кислоту (2 мл) добавляли в реакционную колбу объемом 50 мл и системе позволяли реагировать при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционный раствор выпаривали при пониженном давлении, а остаток разделяли и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии (условия получения: прибор: Gilson GX-281; колонка: Xbridge C18, 150×30 мм внутр. диам., 5 мкм; подвижная фаза: А - ACN и В - H₂O; изократический режим: 65%; скорость потока: 30 мл/мин; обратное давление: 1000 фунтов/кв.дюйм (6,9 МПа); температура колонки: 30°C; длина волны: 210 нм; период: 18 мин; подготовка пробы: соединение растворяли в 12 мл метанола; вводимый объем: 0,9 мл/игла). Полученный раствор выпаривали при пониженном давлении для удаления большей части растворителя и лиофилизировали с получением (2R)-2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-амино-3-фенилпропаноил]амино]-3-фенилпропаноил]-амино]-N-[(1R)-5-амино-1-[2-(2,2,2-трифторацетил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбонил]пентил]-4-метилпентанамид ди-трифторуксусной кислоты (соединения 44) в виде белого порошка (111 мг, выход 51%).

МС $m/z = 758,3 [M+H]^+$;

¹H-ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 7,44-7,28 (м, 6H), 7,24 (д, 4H), 4,64 (т, 1H), 4,38-4,21 (м, 4H), 3,97 (д, 2H), 3,73-3,58 (м, 2H), 3,56-3,43 (м, 1H), 3,40-3,32 (м, 1H), 3,25-3,11 (м, 2H), 3,11-2,93 (м, 4H), 1,99-1,63 (м, 9H), 1,53 (д, 3H), 1,49-1,33 (м, 2H), 0,93 (дд, 6H).

Примеры биологических тестов

Тест 1. Агонистическая активность в отношении κ-опиоидных рецепторов человека.

Форсколин может стимулировать высвобождение цАМФ из линии клеток со сверхэкспрессией κ-опиоидных рецепторов человека, клеток OPRK1 (DiscoveRx), при этом агонисты κ-опиоидных рецепторов могут ингибировать высвобождение цАМФ, стимулированное форсколином. При обнаружении ингибирующего эффекта тестируемого соединения на высвобождение цАМФ, стимулированное форсколином, может быть определена агонистическая активность соединения в отношении κ-опиоидных рецепторов человека. Сначала некоторую концентрацию форсколина и различные концентрации тестируемого соединения инкубировали с линиями клеток с оверхэкспрессией κ-опиоидных рецепторов человека. Иммуноанализ цАМФ (LANCER®, PerkinElmer) на основе резонансного переноса энергии флуоресценции с временным разрешением (TR-FRET) использовали для определения уровней цАМФ в стимулируемых клетках OPRK1. Конкретный метод заключается в следующем.

Клетки OPRK1 (DiscoveRx) с высокой экспрессией κ-опиоидных рецепторов человека культивировали в среде Маккоя 5А (Gibco 16600-082), содержащей 10% FBS (Gibco 10099-141). В день эксперимента клетки в фазе экспоненциального роста промывали и отделяли PBS/5 мМ ЭДТА, собирали с помощью центрифугирования, ресуспендировали в буфере для стимуляции и подсчитывали. Концентрацию клеток доводили до 3×10⁵ клеток/мл. ДМСО использовали для растворения форсколина и тестируемого соединения соответственно, при этом концентрация каждого исходного раствора составила 10 мМ, а затем Форсколин разбавляли до 4 мМ буфером для стимуляции и добавляли различные концентрации тестируемого соединения (концентрации составляли 80, 16, 3,2, 0,64, 0,128, 0,0256, 0,00512, 0,001024, 0 мкМ), по 5 мкл добавляли в каждую лунку 384-луночного планшета. 5 мкл суспензии клеток добавляли в каждую лунку и инкубировали при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем в каждую лунку добавляли по 5 мкл 4× рабочего раствора радиоизотопного индикатора Eu-цАМФ (50-кратное разведение стокового раствора Eu-цАМФ в буфере для обнаружения цАМФ) и по 5 мкл 4× рабочего раствора ULight-anti-cAMP (150-кратное разведение стокового раствора ULight-anti-cAMP в буфере для обнаружения цАМФ) и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч. 384-луночные планшеты исследовали

довали на уровне цАМФ при использовании анализатора для микропланшетов (Perkin Elmer, Envision) на основе метода TR-FRET. Полученные данные обрабатывали и аппроксимировали по EC50 при использовании пакета программ Origin 7.5. Агонистическую активность соединения настоящего изобретения в отношении κ-опиоидных рецепторов человека измеряли в вышеописанных экспериментах, и измеренные значения EC₅₀ показаны в табл. 1.

Способ приготовления буфера для стимуляции: 14 мл 1× HBSS (Invitrogen, номер по кат. 14025-092), 75 мкл 1 М HEPES (Invitrogen, номер по кат. 15630-080), 30 мкл 250 мМ IBMX растворяли в ДМСО (Sigma, номер по кат. 17018) и смешивали с 200 мкл 7,5% стабилизатора BSA. pH раствора доводили до 7,4 0,1n. NaOH и доводили до 15 мл 1× HBSS.

Таблица 1

Агонистическая активность тестируемых соединений
в отношении κ-опиоидных рецепторов человека

Номер соединения	EC ₅₀ (нМ)
Соединение 2	0,41
Соединение 4	0,0159
Соединение 8	0,0112
Соединение 12	0,067
Соединение 13	0,00682
Соединение 14	0,0155
Соединение 15	0,0117
Соединение 17	0,00919
Соединение 18	0,04
Соединение 19	0,044
Соединение 20	0,086
Соединение 22	0,0112
Соединение 23	0,023
Соединение 30	0,071
Соединение 31	0,0136
Соединение 33	0,05

Вывод: соединения изобретения обладают значительным агонистическим действием в отношении κ-опиоидных рецепторов человека.

Тест 2. Эксперимент по методу горячей пластины на мышах.

18-22 г самок мышей C57 приобретали в Chengdu Dashuo Experimental Animal Co., Ltd. Температуру прибора с горячей пластиной устанавливали на 56°C и после достижения 56°C температуру стабилизировали на 30 мин перед экспериментом. Животных помещали в тест с горячей пластиной для наблюдения реакции облизывания задних лап, которую использовали в качестве показателя болевого ответа. Регистрировали время от прихода животного на горячую пластину до вызванного высокой температурой облизывания задних лап. Животных, которые соответствовали критериям включения (время реакции до облизывания задней лапы составляет менее 25 с), включали в номер группы. Животных группировали по начальному порогу, по 10 в каждой группе. Соединения в различных концентрациях вводили подкожно в дозе 10 мл/кг и через 15 мин после введения проводили определение, при этом время отсечки составляло 30 с, и регистрировали время реакции. Результаты подвергали статистическому анализу и вычисляли значение % MPE по следующей формуле: $\% \text{ MPE} = (T_n - T_0) / (30 - T_0)$, (T_n - время до облизывания задней лапы животным после введения, T_0 время до облизывания лапы животным до введения). Результаты эксперимента приведены в табл. 2.

Таблица 2

Номер соединения	MPE (%)
Соединение 2	-17,20
Соединение 4	-19,62
Соединение 8	-18,61
Соединение 15	-13,29

Вывод: обезболивающее действие соединений настоящего изобретения достигается через периферические κ-опиоидные рецепторы.

Тест 3. Эксперимент на модели корчей у мышей.

Внутрибрюшинная инъекция уксусной кислоты мышам может вызвать корчи у мышей. Реакция корчей относится к мышам, которые демонстрируют типичные поведенческие реакции, которые характерны при сокращении или вытягивании брюшных мышц. Анальгетическая активность соединения может быть отражена при обнаружении ингибирующего действия соединения в отношении поведения мышей (корчей), вызванного уксусной кислотой. Конкретный метод заключается в следующем.

Мышей ICR возрастом 8 недель (приобретенных в Chengdu Dashuo Biotechnology Company, номер лицензии: SCXK (Сычуань) 2008-24 (51203500002150)) рандомизированно распределяли в группы по 10 животных, половина самцов и половина самок; с ограничением пищи, но со свободным доступом к воде в течение 12 ч перед экспериментом. В день эксперимента внутривенно вводили 1,0 мг/кг тестируемого соединения, при этом контрольная группа получала холостой реактив. Через 15 мин после введения внутривенно вводили 0,6% (об./об.) раствор уксусной кислоты в дозе 0,4 мл/мышь. Число корчей у мыши в течение 15 мин и через 6 ч после инъекции уксусной кислоты регистрировали соответственно и соответственно вычисляли процентное ингибирование соединением вызванных уксусной кислотой корчей у мышей. Результаты анализа показаны в табл. 3.

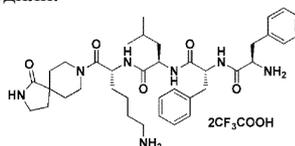
Процентное ингибирование % = (количество корчей в контрольной группе - количество корчей в группе введения)/количество корчей в контрольной группе.

Таблица 3

Процентное ингибирование тестируемыми соединениями
вызванных уксусной кислотой корчей у мышей

Номер соединения	Процентное ингибирование после 15 мин (%)	Процентное ингибирование после 6 ч (%)
Соединение 2	98,07	80,58
Соединение 3	86,44	NQ
Соединение 4	95,76	81,27
Соединение 8	90,68	90,82
Соединение 9	81,92	NQ
Соединение 12	91,04	NQ
Соединение 13	88,98	NQ
Соединение 14	92,87	NQ
Соединение 15	94,50	87,14
Соединение 17	95,43	97,89
Соединение 18	99,37	95,69
Соединение 19	99,71	84,74
Соединение 20	97,47	83,41
Соединение 22	90,38	88,71
Соединение 23	88,46	87,93
Соединение 24	94,89	80,51
Соединение 25	98,08	85,03
Соединение 26	94,25	92,94
Соединение 27	94,00	NQ
Соединение 28	84,29	NQ
Соединение 30	97,36	NQ
Соединение 31	99,28	90,03
Соединение 33	89,42	NQ
Соединение 36	89,14	75,71
Соединение 37	95,85	NQ
Соединение 42	99,33	75,14
Соединение 43	98,00	76,57
Соединение 44	93,32	NQ
Контроль	61,11	28,96

NQ означает, что тест не проводили.



В качестве контроля использовали CN101627049A, в форме свободного основания.

Вывод: соединения настоящего изобретения обладают значительным обезболивающим действием.

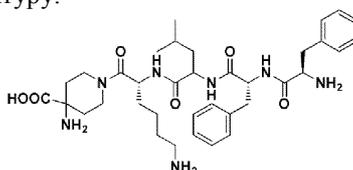
Некоторые тестируемые соединения также исследовали в тесте длительного действия на модели уксусных корчей у мышей. Согласно такому же методу исследования, как описано выше, способ введения являлся внутривенной инъекцией, и доза составляла 3 мг/кг или 10 мг/кг. Регистрировали количество корчей у мыши в течение 18 ч после инъекции уксусной кислоты, и соответственно вычисляли процентное ингибирование тестируемыми соединениями вызванных уксусной кислотой корчей у мышей. Результаты показаны в табл. 4.

Таблица 4

Процентное ингибирование после 18 ч тестируемыми соединениями
вызванных уксусной кислотой корчей у мышей

Номер соединения	Доза	Процентное ингибирование после 18 ч (%)
Cr-845	10 мг/кг	49,11
Соединение 8	3 мг/кг	83,86
Соединение 10	3 мг/кг	72,30
Соединение 17	10 мг/кг	78,11
Соединение 18	3 мг/кг	54,00
Соединение 23	10 мг/кг	73,37
Соединение 25	10 мг/кг	74,26
Соединение 26	10 мг/кг	69,82
Соединение 31	10 мг/кг	75,44
Соединение 42	10 мг/кг	61,69
Соединение 43	3 мг/кг	70,19

CR845 имеет следующую структуру:



Вывод: Некоторые соединения настоящего изобретения обладают значительным обезболивающим действием и преимуществом длительного действия.

4. Исследование ФК у крыс.

Цели исследования	Однократную дозу тестируемого вещества вводили внутривенно крысам SD, концентрацию тестируемого вещества измеряли в плазме крыс и оценивали фармакокинетические характеристики и биодоступность тестируемого вещества у крыс.
Способ введения	Внутривенная инъекция
Доза	1 мг/кг (вычислена для свободной формы)
Подопытное животное	Самцы крыс SD, примерно 180–220 г, возрастом 6–8 недель, в общей сложности 12, разделенные на 2 группы, приобретенные в Chengdu Dashuo Experimental Animal Co., Ltd.
Схема исследования	0,20 мл крови крысы забирали из глазницы до и после введения и помещали в центрифужную пробирку с ЭДТА-К2. Центрифугировали при 5000 об/мин и 4°C в течение 10 мин для сбора плазмы. Время в/в забора крови: 0, 5, 15, 30 мин, 1, 2, 4, 6, 8, 24 часа. До исследования все образцы плазмы хранили при -80°C.

Таблица 5

Результаты исследования ФК у крыс (1 мг/кг)

Соединение	Способ введения	t _{1/2} (ч)	Cl (мл/кгмин)	Vdss (л/кг)	AUC _{0-t} (нг/мл·ч)
CR-845	в/в	3,90	8,29	1,56	1959
Соединение 2	в/в	4,22	5,97	1,47	2664

5. Исследование ФК у мышей.

Цели исследования	Однократную дозу тестируемого вещества вводили внутривенно мышам ICR, концентрацию тестируемого вещества измеряли в плазме крыс и оценивали фармакокинетические характеристики тестируемого вещества у мышей.
Способ введения	Внутривенная инъекция
Доза	1 мг/кг (вычислена для свободной формы)
Подопытное животное	Самцы крыс ICR, примерно 18–22 г, возрастом 6–8 недель, всего 6 мышей, разделенные на 2 группы, приобретенные в Chengdu Dashuo Experimental Animal Co., Ltd.
Схема исследования	20 мкл крови забирали из глазницы мыши под анестезией изофлураном до и после введения и помещали в антикоагуляционную пробирку с ЭДТА-К2. Центрифугировали при 5000 об/мин и 4°C в течение 10 мин для сбора плазмы. Время в/в забора крови: 0, 5, 15, 30 мин, 1, 2, 4, 6, 8, 24 часа. До исследования все образцы плазмы хранили при -80°C.

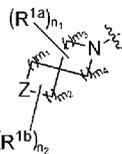
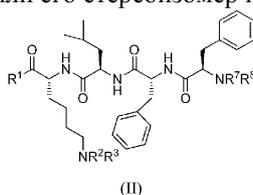
Таблица 6

Результаты исследования ФК у мышей (1 мг/кг)

Соединение	Способ введения	t _{1/2} (ч)	AUC _{0-t} (нг/мл·ч)
CR-845	в/в	0,388	1117
Соединение 8	в/в	5,77	1220
Соединение 17	в/в	3,88	2244

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение общей формулы (II) или его стереоизомер или фармацевтически приемлемая соль:



где R^1 выбран из
каждый из m_1, m_2, m_3, m_4 независимо выбран из 1 или 2;
каждый из n_1, n_2 независимо выбран из 0 или 2;
 R^{1a}, R^{1b} независимо выбраны из F;
 Z выбран из $CR^{z1}R^{z2}$ или NR^{z3} ;

каждый из R^{z1}, R^{z2} независимо выбран из H, карбоксила, , амино;

в альтернативе R^{z1} и R^{z2} могут образовывать лактам с атомом углерода, к которому они присоединены;

каждый R^{z3} независимо выбран из H, $-C(=O)-C_{1-4}$ алкильной, $-C(=O)-C_{3-6}$ карбоциклической группы, $-C(=O)O-C_{1-4}$ алкильной, $-S(=O)_p-C_{1-4}$ алкильной, $-S(=O)_p-C_{3-6}$ карбоциклической группы, $-C(=O)NR^{1g}R^{1h}$, $-S(=O)_p-NR^{1i}R^{1j}$ или 3-6-членной гетероциклической группы, при этом алкильная, карбоциклическая или гетероциклическая группа необязательно дополнительно замещена 0-3 заместителями, выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, OH, CF_3 , amino, метила, этила, метокси, этокси или фенила, гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, выбранных из N, O или S;

каждый из $R^{1g}, R^{1h}, R^{1i}, R^{1j}$ независимо выбран из H или C_{1-4} алкила;

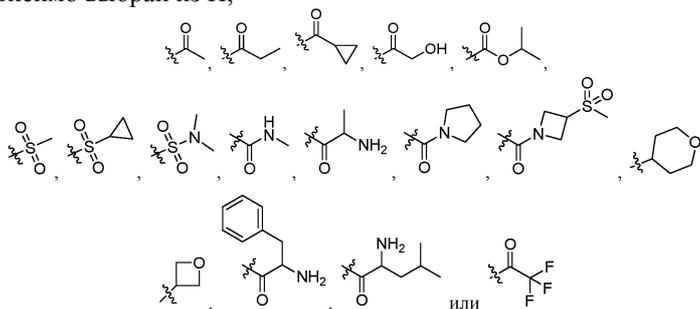
в альтернативе R^{1g}, R^{1h} образуют 4-6-членное гетероциклическое кольцо с атомом азота, к которому они присоединены, и кольцо необязательно дополнительно замещено заместителем(ями), выбранным из группы, состоящей из F, CF_3 , метила, метокси или $-S(=O)_p-C_{1-4}$ алкила, гетероциклическая группа содержит 1-3 гетероатома, выбранных из N, O или S;

p выбран из 2;

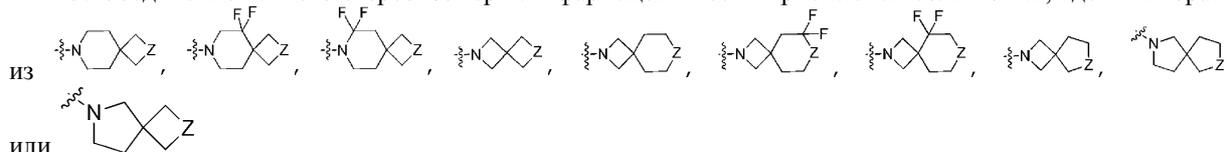
каждый из R^2, R^3, R^7, R^8 независимо представляет собой H.

2. Соединение или его стереоизомер или фармацевтически приемлемая соль по п.1, где соединение выбрано из соединения общей формулы (II), где

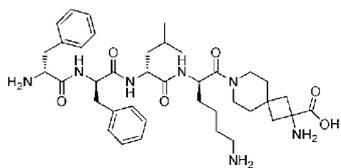
каждый R^{z3} независимо выбран из H,



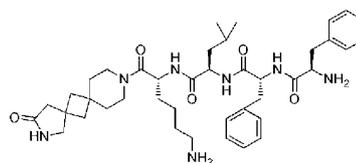
3. Соединение или его стереоизомер или фармацевтически приемлемая соль по п.2, где R^1 выбран



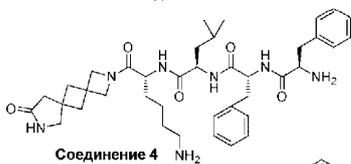
4. Соединение или его стереоизомер или фармацевтически приемлемая соль по п.3, где соединение выбрано из следующих структур:



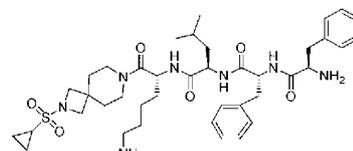
Соединение 2



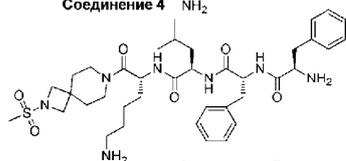
Соединение 3



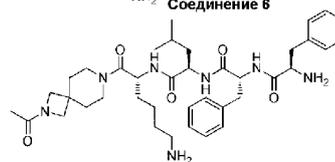
Соединение 4



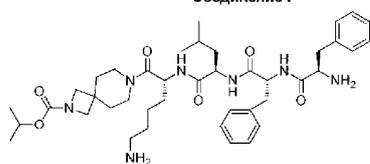
Соединение 6



Соединение 7



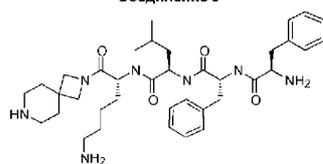
Соединение 8



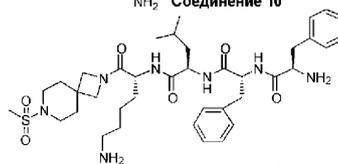
Соединение 9



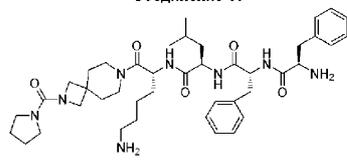
Соединение 10



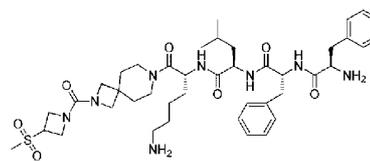
Соединение 11



Соединение 12

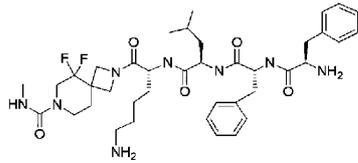


Соединение 13

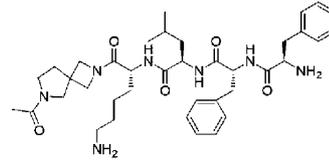


Соединение 14

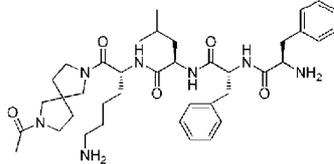




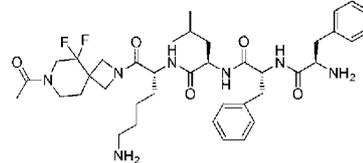
Соединение 29



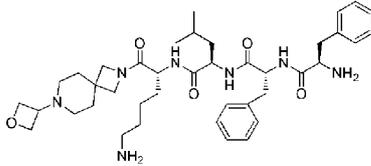
Соединение 30



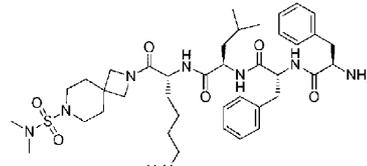
Соединение 31



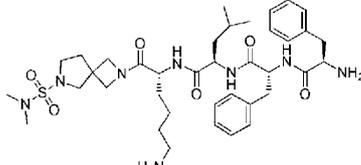
Соединение 32



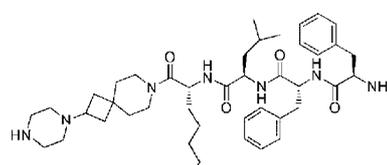
Соединение 33



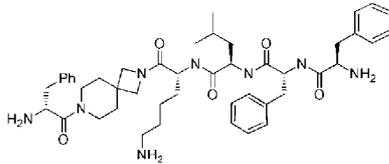
Соединение 34



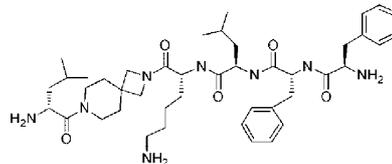
Соединение 35



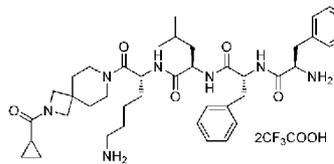
Соединение 36



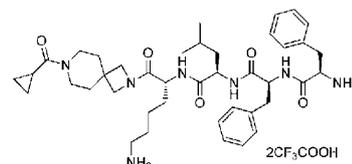
Соединение 37



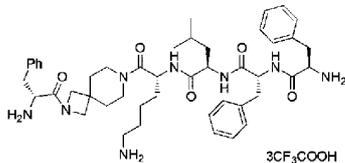
Соединение 38



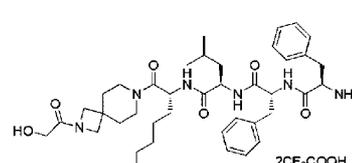
Соединение 39



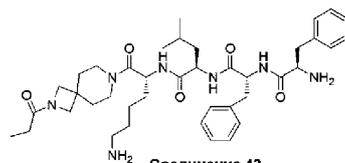
Соединение 40



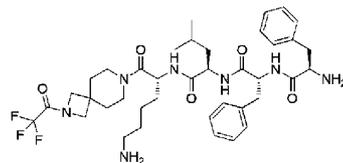
Соединение 41



Соединение 42



Соединение 43



Соединение 44

5. Соединение или его стереоизомер или фармацевтически приемлемая соль по любому из пп.1-4, где фармацевтически приемлемые соли выбраны из трифторацетатов.

6. Фармацевтическая композиция для лечения или предотвращения заболевания или состояния, ассоциированного с κ-опиоидным рецептором, у млекопитающего, включающая соединение или его стереоизомер или фармацевтически приемлемую соль по любому из пп.1-5 и один или более фармацевтически приемлемых носителей и/или вспомогательных веществ.

7. Применение соединения или его стереоизомера или фармацевтически приемлемой соли по любому из пп.1-5 в производстве лекарственного средства для лечения или предотвращения заболевания или состояния, ассоциированного с κ-опиоидным рецептором, у млекопитающего.

8. Применение по п.7, где ассоциированное с κ-опиоидным рецептором заболевание или состояние выбрано из группы, состоящей из боли, воспаления, зуда, отека, гипонатриемии, гипокалиемии, непроходимости кишечника, кашля и глаукомы.

9. Применение по п.8, где боль выбрана из группы, состоящей из нейропатической боли, соматической боли, висцеральной боли и дерматалгии.

10. Применение по п.8, где боль выбрана из группы, состоящей из боли при артрите, боли при уролитиазе, гистероспазма, дисменореи, эндометриоза, диспепсии, послеоперационной боли, боли после терапевтического лечения, боли в глазах, боли при отите, боли при фульминантной печеночной недостаточности вследствие рака и боли, связанной с нарушениями ЖКТ.

11. Применение фармацевтической композиции по п.6 в производстве лекарственного средства для лечения или предотвращения заболевания или состояния, ассоциированного с κ-опиоидным рецептором, у млекопитающего.

12. Применение по п.11, где ассоциированное с κ-опиоидным рецептором заболевание или состояние выбрано из группы, состоящей из боли, воспаления, зуда, отека, гипонатриемии, гипокалиемии, непроходимости кишечника, кашля и глаукомы.

13. Применение по п.12, где боль выбрана из группы, состоящей из нейропатической боли, соматической боли, висцеральной боли и дерматалгии.

14. Применение по п.12, где боль выбрана из группы, состоящей из боли при артрите, боли при уролитиазе, гистероспазма, дисменореи, эндометриоза, диспепсии, послеоперационной боли, боли после терапевтического лечения, боли в глазах, боли при отите, боли при фульминантной печеночной недостаточности вследствие рака и боли, связанной с нарушениями ЖКТ.

