

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА  
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ВИСОКИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Завідувач кафедри супрамолекулярної хімії

\_\_\_\_\_ проф. Рябухін Сергій Вікторович

Протокол № \_\_\_\_\_ засідання кафедри

від « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

**СИНТЕЗ 3-ЗАМІЩЕНИХ ПОХІДНИХ ПРОЛІНУ**

Випускна кваліфікаційна робота магістра

студента спеціальності 102 Хімія

ОП«Хемоінформатика»

**Деркача Нікити Олексійовича**

Науковий керівник

зав. кафедри супрамолекулярної хімії

д.х.н., проф. **Рябухін Сергій Вікторович**

Оцінка захисту роботи

\_\_\_\_\_

Робота виконана у лабораторії органічного синтезу ТОВ НВП «Єнамін»

під керівництвом зав. лаб. Левченка К.В.

Київ – 2023 р.

## Зміст

АНОТАЦІЯ.....	3
Вступ.....	4
Розділ 1. Літературний огляд.....	5
Розділ 2. Синтез 3-заміщених похідних проліну.....	11
Розділ 3. Експериментальна частина.....	19
Висновки.....	40
Список використаної літератури.....	41
ДОДАТОК А.....	44

## АНОТАЦІЯ

### **Деркач Н.О. Синтез 3-заміщених похідних проліну**

Магістерська дипломна робота за спеціальністю 102 Хімія ОП «Хемоінформатика», Київський національний університет ім. Т.Г. Шевченка, Київ, 2023 рік.

Магістерську дипломну роботу присвячено синтезу 3-заміщених похідних проліну

У ході виконання досліджень були розглянуті вже відомі та відпрацьовані методи синтезу 3-заміщених похідних проліну, проведено дослідження по оптимізації умов реакцій та розроблено препаративні методи синтезу нових сполук що містять пролінове кільце.

Отримані сполуки можуть бути використані як білдинг-блоки для синтезу потенційних лікарських засобів.

## Вступ

Амінокислоти - це органічні сполуки, які служать білдинг блоками білків. Вони є основою для синтезу білків, які виконують ключові функції в організмі. Вони дозволяють розробляти протеїнові ліки та пептиди, які можуть мішати або підтримувати взаємодію з молекулами-мішенями в організмі. В медичній хімії амінокислоти можуть бути модифіковані, щоб поліпшити їх фармакокінетичні властивості. Наприклад, заміна амінокислоти в пептиді на нестандартну амінокислоту може покращити стабільність, біодоступність та селективність лікарського засобу. [16], [17], [18]

Проліни - це неполярні амінокислоти, які зазвичай містяться в білках. Завдяки своїм унікальним властивостям проліни були предметом численних досліджень у галузі біохімії та структурної біології. Вплив на згортання та стабільність білка: завдяки своїй жорсткій структурі проліни можуть створювати структурні обмеження, які ускладнюють прийняття білками певних конформацій. Це може призвести до неправильного згортання та агрегації білків, що призводить до таких захворювань, як хвороба Альцгеймера та Паркінсона. І навпаки, залишки проліну також можуть допомогти стабілізувати білки та запобігти неправильному згортанню. Наприклад, було показано, що проліни відіграють вирішальну роль у згортанні деяких білків, таких як колаген. [19], [20], [21]

## Розділ 1. Літературний огляд

### 1.1 Синтез 3-алкіл та 3-арил заміщених похідних проліну

Перший повноцінно запропонований метод синтезу 3-заміщених пролінових похідних був запропонований та описаний John Y. L. Chung, James T. Wasicak, William A. Arnold, Catherine S. May, Alex M. Nadzan, and Mark W. Holladay у 1990-ому році, коли вони досліджували оптичну роздільну здатність пролінів. У даних статтях автори проводили циклізацію за допомогою приєднання ацетаміду малонowego естеру по Міхаелю, отриманий аміналь відновлювали за допомогою триетилсилану і трифтороцтової кислоти, декарбосиллювали діестер кип'ятінням у концентрованій соляній кислоті і вшали захисну групу Boc на отриману амінокислоту. [1]

У даній публікації автори оптимізували, більш детально розглянули і описали запропоновану у 1964 році методику від COX, JOHNSON і MAUGER.

[2]

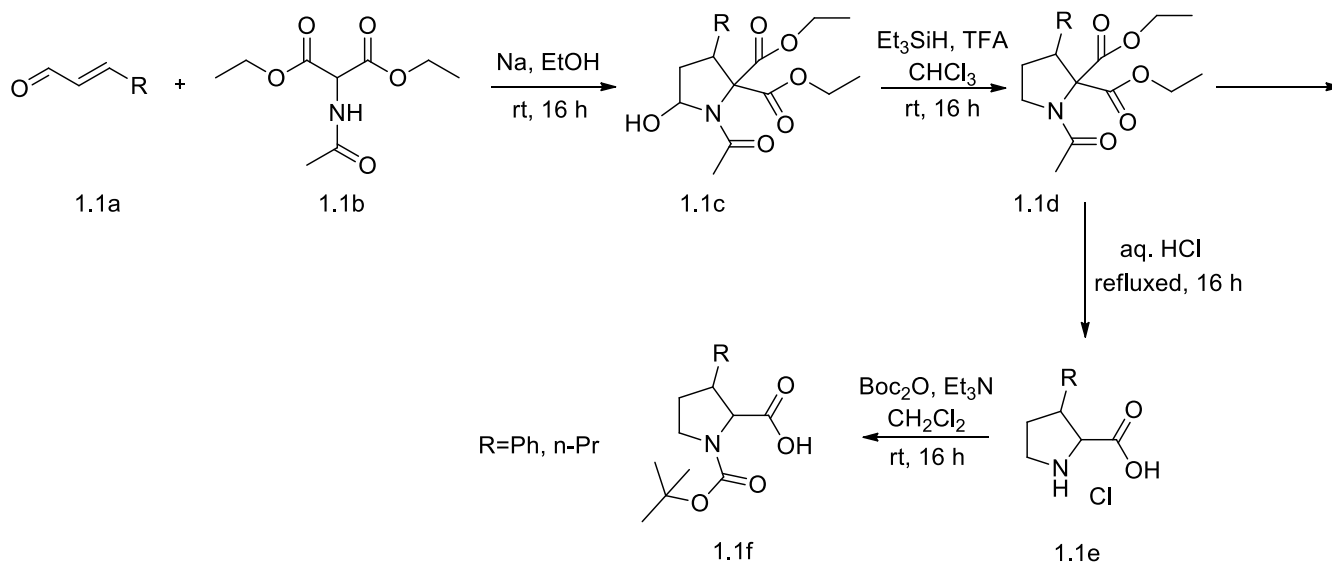


Рис. 1.1 Схема синтезу 3-заміщених похідних пролінів

## 1.2 Синтез 3,3-дифтор заміщених похідних проліну

У 1995 році Guo-qiang Shi і Wei-ling Cai запропонували схему синтезу 3,3-дифлоурозаміщеного проліну. У даній статті було розглянуто синтез  $\beta,\beta$ -дифлоуро- $\alpha$ -кето естерів, які в подальшому могли б використовуватись як проміжні сполуки для синтезу  $\beta,\beta$ -дифлоуро- $\alpha$ -аміно кислот. Перед авторами поставала ціль у пошуку нового методу синтезу фторованих альфа-амінокислот, не використовуючи високотоксичних фторуючих реагентів. Вибір пав саме на фторвмісні, через те що у розглянутих ними статтях, було зазначено що фторвмісні амінокислоти можуть функціонувати як високоселективні та потужні інгібітори піридоксальфосфат-залежних ферментів за допомогою суїцидального механізму. [21], [22]

Спочатку автори отримували напівацеталь взаємодією  $\beta,\beta,\beta$ -трифлуорлактолового естеру зі спиртом, далі відбувалось заміщення гідроксильної групи на хлор, за допомогою тіоніл хлориду і піридину у бензолі, подальше дехлорфторування проводилось за допомогою активованого у ДМФі цинку, автори зазначають що під час реакції спостерігалась дуже сильна екзотерма процесу, але попри це, був отриманий продукт з високим виходом. Потім отриманий дифлуорований алкеноспирт вступав у перегрупування Кляйзена шляхом кип'ятіння у бензолі, з отриманим продуктом проводилось заміщення з кето групи на О-метил амін і відновлення проводилось за допомогою цинку у водній мурашиній кислоті. Далі вводилась захисна група Cbz-. Отриманий захищений аміноалкен вступав в реакцію з озоном і утворений озонід при взаємодії з диметилсульфідом сприяв закриванню циклу у аміналь. Подальше зняття захисної групи шляхом гідрогенування у метанолі з солянкою призводило до утворення циклічного іміну який також відновлювався у сполуку 1.2f. Так як авторами було зазначено що сполука Номер була нестабільна у вигляді основи, то її подальший гідроліз проводився у соляній кислоті. [3]

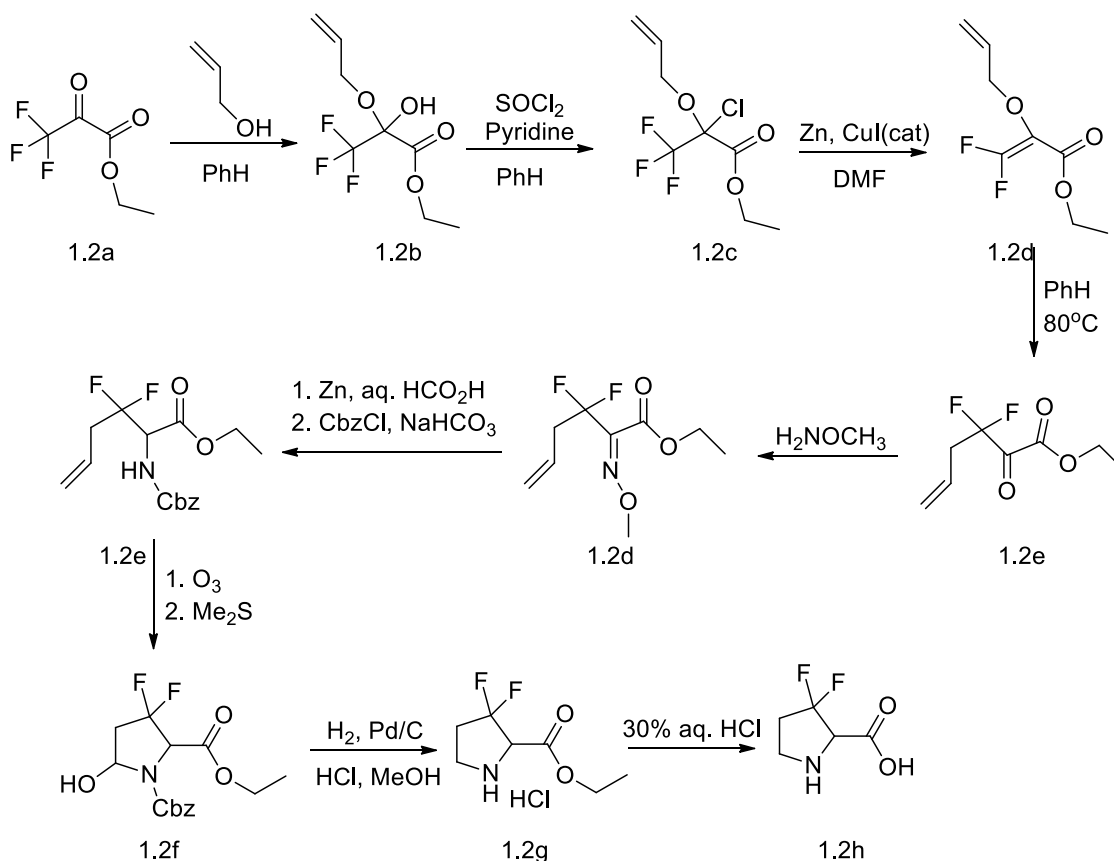


Рис. 1.2 Схема синтезу 3,3-дифлоурпроліну

У 2016 році Christelle Doebelin, Yuanjun He і Theodore M. Kamenecka вирішили розробити метод синтезу оптично чистих (R) і (S) ізомерів 3,3-дифлоурпролінів, їх мета базувалась на тому що оптично чисті ізомери 4,4-дифлоурпроліну дуже добре показали себе у медичній хімії при синтезі інгібіторів капсиду вірусу гепатиту В (HBV).

При розробці методики вони враховували спроби синтезу 3,3-дифлоурпролінів минулих років, але у кожній з методик стикалися з проблемою доступності або безпечності певних реагентів, тому вирішили відштовхувались від тих реагентів, які були для них більш легкодоступними.

На рисунку 1.3 зображена схема синтезу та умови для реакцій, які були обрані дослідниками. Почати вони вирішили з конденсації Масамуне-Кляйзена двох комерційно доступних карбонових кислот. Введення

діазогрупи робилось за допомогою метакарбосибензенсульфоніл азида (mCBSA). Замикання циклу проводилось з ацетатом родію при нагріванні, було зазначено що реакція проходить з доволі високими виходами. Введення двох фторів робилось DASTом і подальший гідроліз у карбонову кислоту проводився трифтороцтовою кислотою. [4]

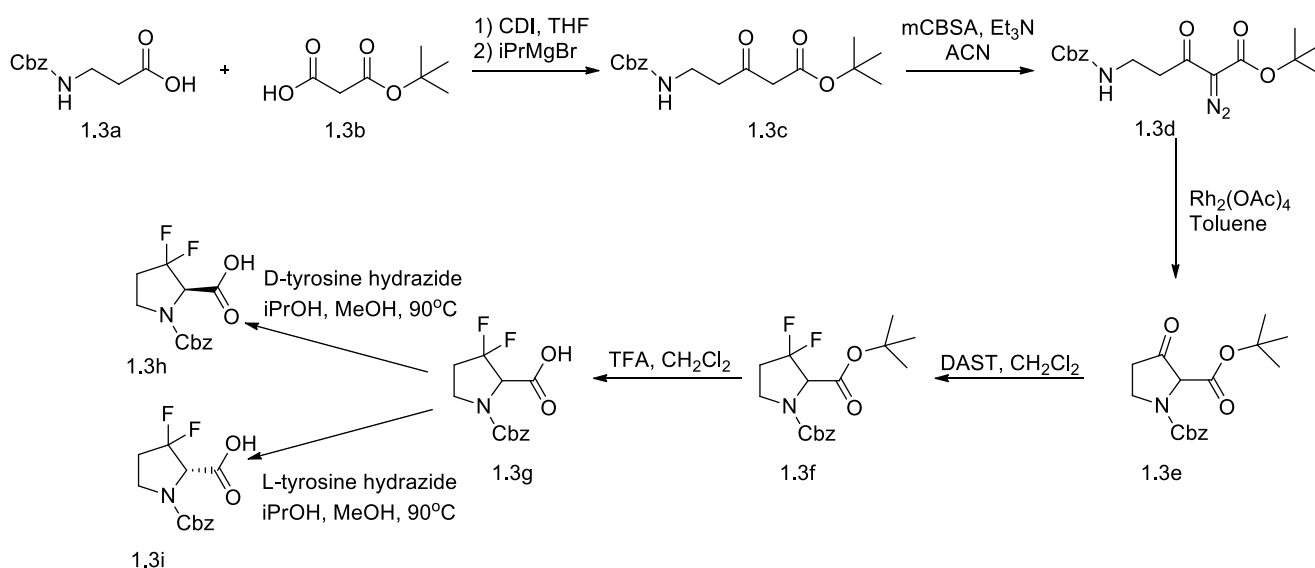


Рис. 1.3 Схема синтезу оптично чистих ізомерів 3,3-дифторпролінів

### 1.3 Синтез 5-фторметил проліну шляхом відновлення лактаму

У 2011 році при розробці інгібіторів вірусу гепатиту С перед дослідниками постала задача у синтезі 1-(трет-бутоксикарбоніл)-5-(фторметил)піролідин-2-карбонової кислоти, методика полягала у тому, що вихідних спирт вступає у реакцію Аппеля і заміщується на бромід. Бромід заміщується на фтор за допомогою фториду срібла. У молекулу вводиться захисна група Вос і отриманий захищений амід відновлюється до аміналю триетилборгідридом літію. Гідрокси група заміщається на ціано групу, яка в подальшому гідролізується соляною кислотою у карбонову кислоту і потім знову Восується. [7], [10], [11]

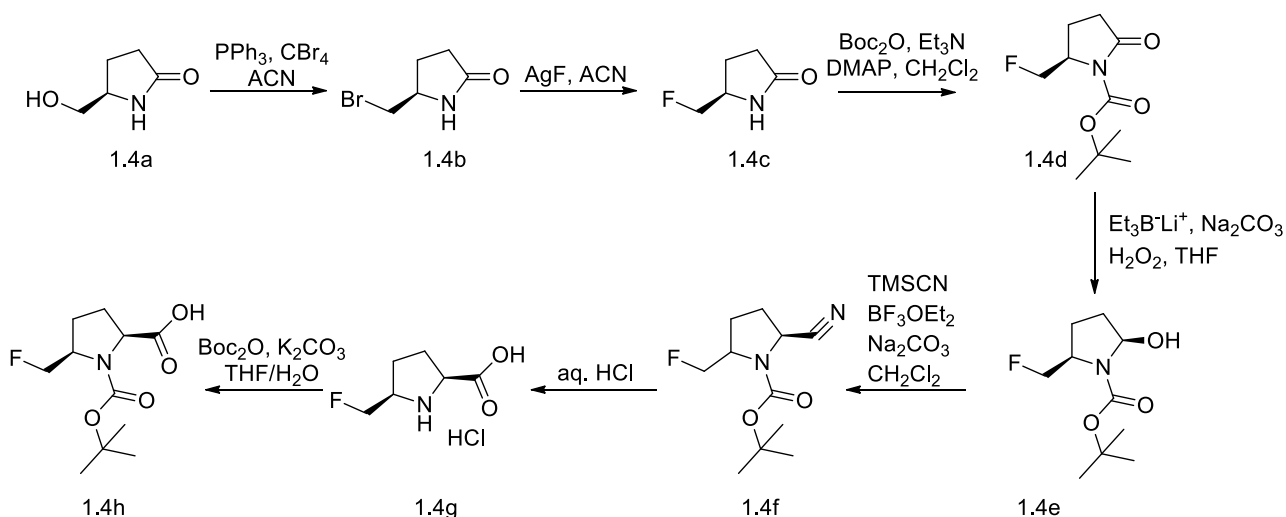


Рис. 1.4 Схема синтезу 5-заміщеного проліну

#### 1.4 Синтез 3-гідрокси-3-метил проліну

У 2004 році Franklin A. Davis, Tokala Ramachandar і Hu Liu проводили дослідження по асиметричному синтезу альфакетоамінів використовуючи при цьому 1,3-дитіан. Після вдалих експериментів, ними було вирішено провести асиметричний синтез 3-гідрокси-3-метилпроліну. На рисунку 1.5 зображена запропонована і відтворена авторами схема синтезу. Почати вони вирішили з гетероциклізації сульфінімінового похідного бензальдегіду і літійованого похідного 2-(2-гідроксиетил)-1,3-дитіану. Наступним шагом буде зняття сульфінімінової захисної групи і введення тозильної. 1,3-дитіан гідролізували за допомогою PIFA (phenyliodine(III) bis(trifluoroacetate)), метильну групу вводили MeMgBr. Окислення фенільного фрагменту у кислоту відбувалось завдяки хлориду рутенію і періодату натрію з подальшою естерифікацією TMS діазометаном. Отримання кінцевої амінокислоти досягалось за допомогою гідролізу гідроксидом літію і відновленням за Берчем. [8], [9]

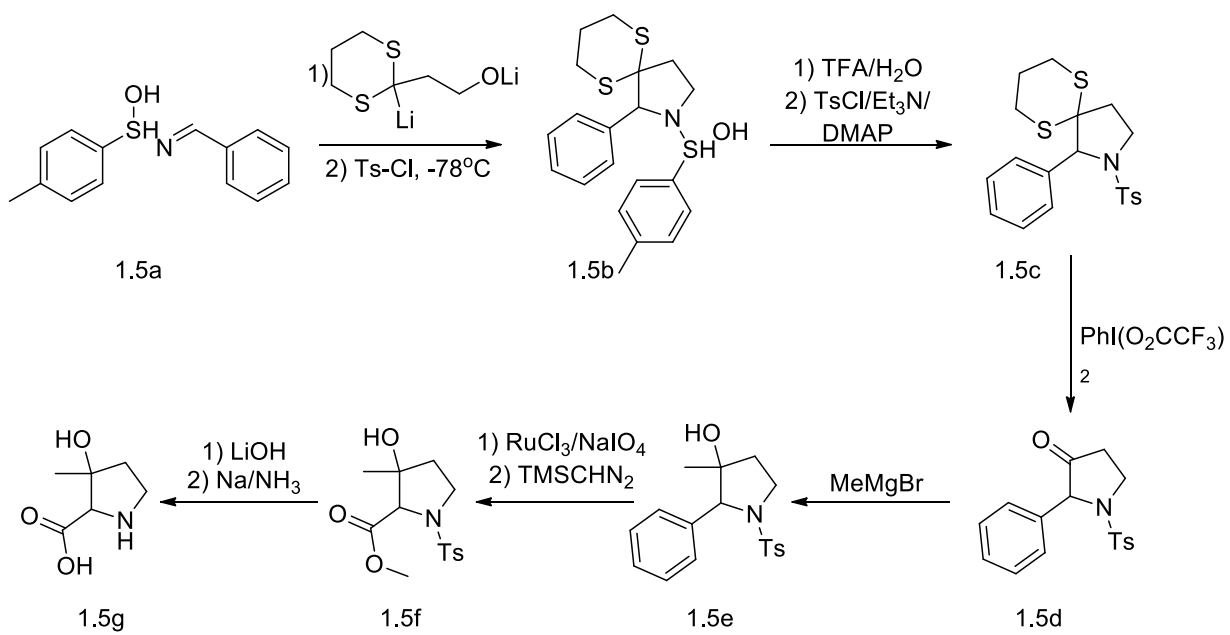


Рис 1.5 Асиметричний синтез 3-гідрокси-3-метилпроліну

## Розділ 2. Синтез 3-заміщених похідних проліну

У представленій роботі було розглянуто синтез 3-заміщених похідних проліну. Було обрано ряд сполук які можна було синтезувати і підібрані схеми синтезу.

Ряд ключових сполук що були синтезовані зображено на рисунку 2.1:

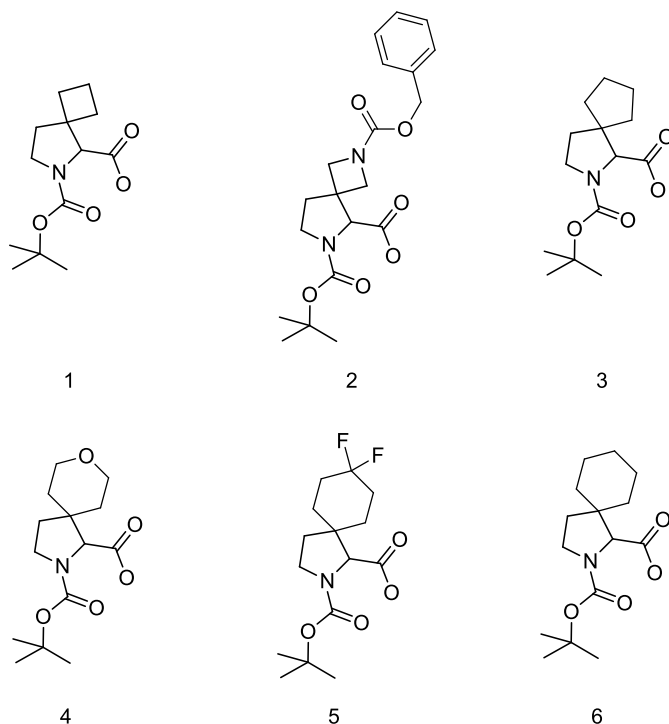


Рисунок 2.1 Список синтезованих 3-заміщених похідних проліну

Виходячи з літературного огляду для циклобутанового та азетидинового похідних, була обрана наступна схема синтезу [1], [2]:

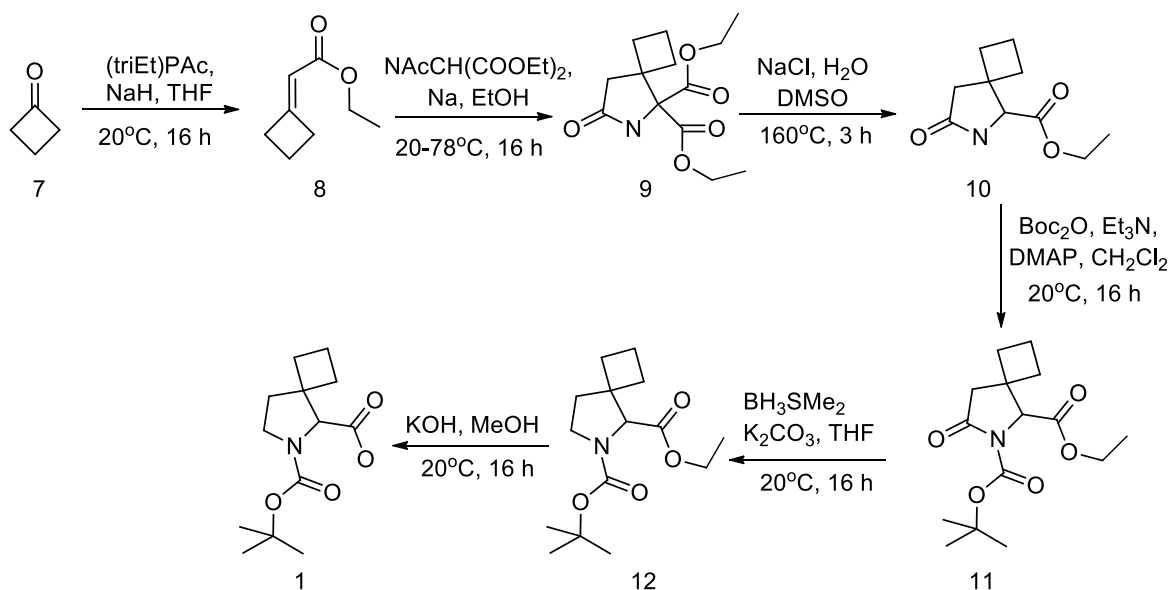


Рис. 2.1 Схема синтезу 6-(трет-бутоксикарбоніл)-6-азаспіро[3.4]октан-5-карбонова кислота

Як вихідну сполуки, було обрано відповідний кетон 7. Сполука 8, була отримана за допомогою реакцій Хорнера, тип реакції обирався виходячи з того як максимально легко і швидко можна було би почистити продукт реакції. Очистка проводилась за допомогою Перегонки під низьким тиском.

Сполука 9 була отримана за допомогою реакції Міхаеля з ацетамідом маленового естеру. Сполуку було очищено за допомогою затирання у суміші розчинників (Гексан/МТБЕ).

Сполуку 10 отримували шляхом проведення декарВосиллювання за Крапчо. Продукт реакції був очищений за допомогою ФХ.

Сполука 11 була отримана введенням у молекулу захисної групи Boc, запускалаь у наступну стадію без додаткової очистки.

Відновлення аміду 11 проводилось за допомогою боран-ДМС, сполука 12 була очищена за допомогою ФХ.

Сполука 1 була отримана шляхом лужного гідролізу і дочищена за допомогою кислотно-основної екстракції.

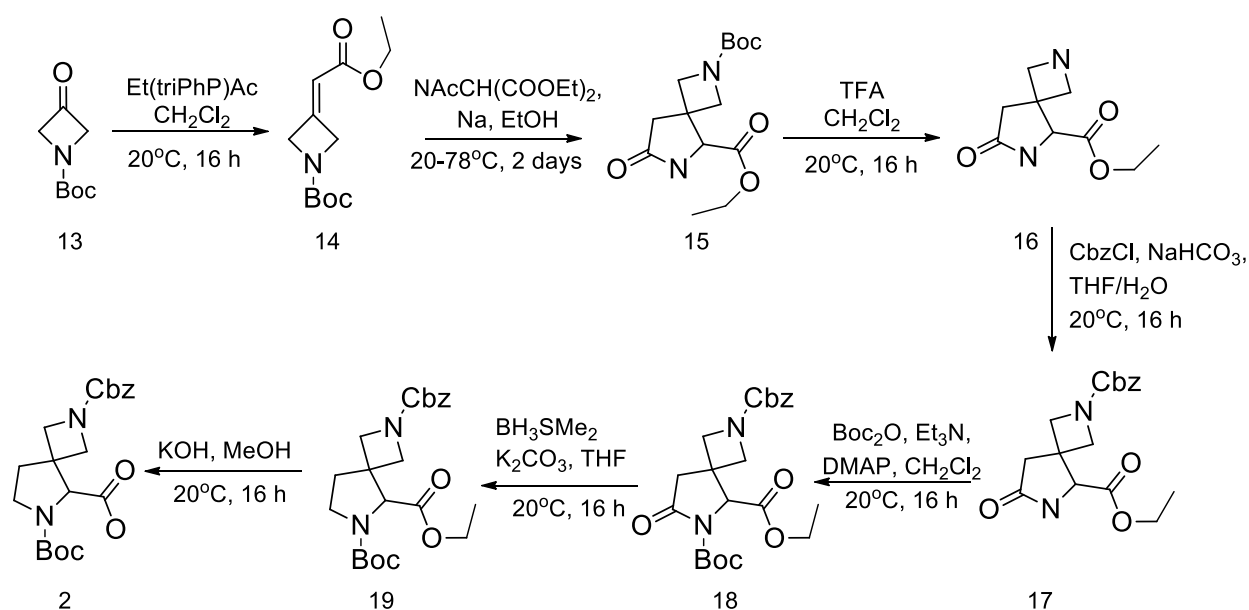


Рис 2.2 Схема синтезу 2-((бензилокси)карбоніл)-6-(трет-бутоксикарбоніл)-2,6-діазаспіро[3.4]октан-5-карбонової кислоти

Як вихідну сполуку, було обрано відповідний кетон 13. Сполука 14, була отримані за допомогою реакцій Віттіга, тип реакції обирався виходячи з того як максимально легко і швидко можна було би почистити продукт реакції. Очистка проводилась за допомогою ФХ.

Сполука 15 була отримана за допомогою реакції Міхаеля з ацетамідом малонового естеру. Сполуку було очищено за допомогою затирання у суміші розчинників (Гексан/МТБЕ).

Сполука 16 була отримана шляхом деВосування за допомогою TFA, отриманий трифторацетат запускався далі без очистки.

Сполука 17 була отримана шляхом введення захисної групи Cbz-. Запускалась у наступну стадію без додаткової очистки.

Сполука 18 була отримана введенням у молекулу захисної групи Вос, очистка проводилась за допомогою ФХ.

Відновлення аміду 18 проводилось за допомогою боран-ДМС, сполука 19 була очищена за допомогою ФХ.

Сполука 2 була отримана шляхом лужного гідролізу і очищена за допомогою кислотно-основної екстракції.

Реакція Міхаеля на всіх інших об'єктах не проходила, на нашу думку циклізація не відбувалась через певні конформаційні утруднення даних сполук або величину кільця, тому для циклопентанового, циклогексанового, тетрагідропіранового і дифторциклогексанового похідних були обрані наступні схеми синтезу [11], [12], [13], [14]:

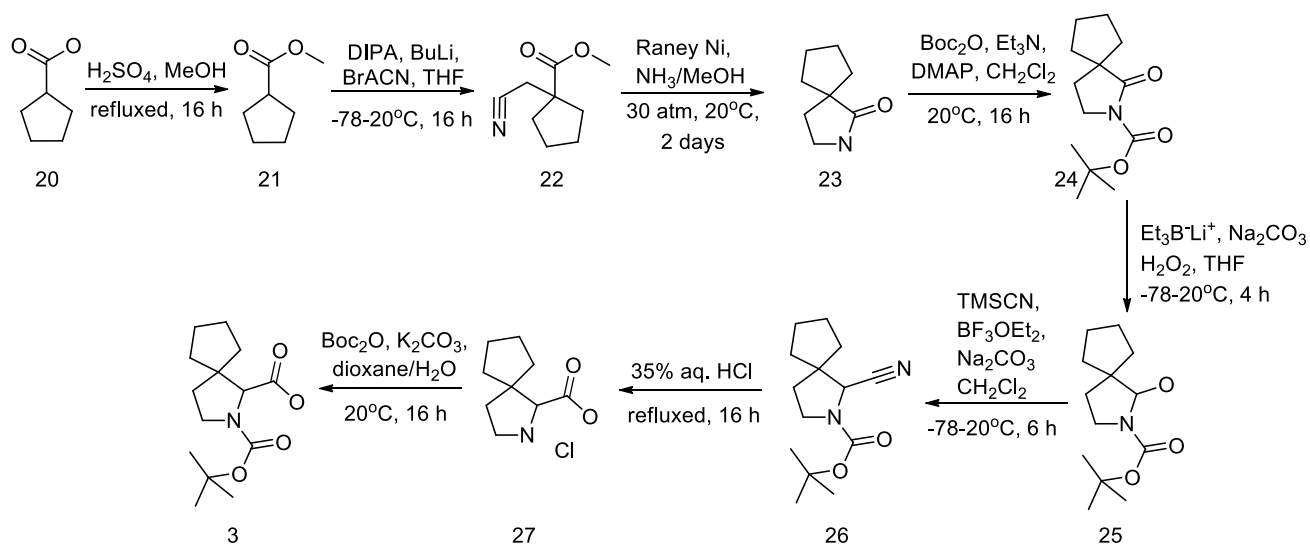


Рис. 2.3 Схема синтезу 2-(трет-бутоксикарбоніл)-2-азаспіро[4.4]нонан-1-карбонової кислоти

Сполука 21 була синтезована з відповідної кислоти 20, за допомогою сірчаної кислоти і метанолу. У наступну стадію запускалаь без очистки.

Сполука 22 отримувалась шляхом літіювання за допомогою ЛДА і бромацетонітрилу. Очистка проводилась за допомогою ФХ.

Отримання лактаму 23 проводилось у автоклавах високого тиску за допомогою свіжеприготованого Нікелю Ренея. Запускалась далі без очистки.

Сполука 24 отримувалась введенням у молекулу захисної групи Boc. Використовувалась далі без очистки.

Відновлення аміду 24 було здійснене за допомогою триетилборгідриду літію або супер гідриду. Реакція йде регіоселективно, тому отримана сполука 25 використовувалась далі без очистки.

Отримання нітрилу 26 відбувалось за допомогою TMSCN і ефірату трифтористого бору. Використовувалась далі без очистки.

Гідроліз нітрилу 26 проводився у водній солянці, під час реакції також відбувався побічний процес зняття захисної групи Boc, але це не впливало на синтез кінцевої сполуки. Сполука 27 запускала далі без очистки.

Кінцеву сполуку 3 було отримано шляхом повторного введення захисної групи Boc і очищено за допомогою кислотно-основної екстракції.

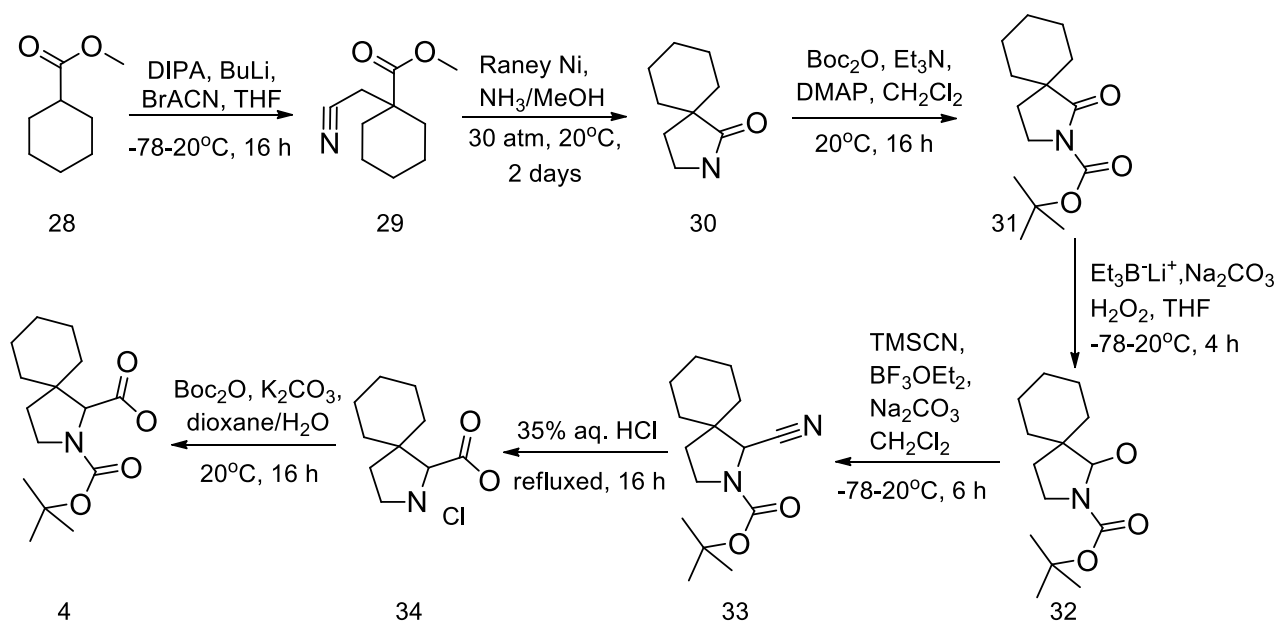


Рис. 2.4 Схема синтезу 2-(трет-бутоксикарбоніл)-2-азаспіро[4.5]декан-1-карбонової кислоти

Сполука 29 отримувалась шляхом літіювання за допомогою ЛДА і бромацетонітрилу. Очистка проводилась за допомогою ФХ.

Отримання лактаму 30 проводилось у автоклавах високого тиску за допомогою свіжеприготованого Нікелю Ренея. Запускалась далі без очистки.

Сполука 31 отримувалась введенням у молекулу захисної групи Boc. Використовувалась далі без очистки.

Відновлення амідів 31 було здійснене за допомогою триетилборгідриду літію або супер гідриду. Реакція йде регіоселективно, тому отримана сполука 32 використовувалась далі без очистки.

Отримання нітрилу 33 відбувалось за допомогою  $\text{TMSCN}$  і ефірату трифтористого бору. Використовувалась далі без очистки.

Гідроліз нітрилу 33 проводився у водній солянці, під час реакції також відбувався побічний процес зняття захисної групи  $\text{Boc}$ , але це не впливало на синтез кінцевої сполуки. Сполука 34 запускала далі без очистки.

Кінцеву сполуку 4 було отримано шляхом повторного введення захисної групи  $\text{Boc}$  і очищено за допомогою кислотно-основної екстракції.

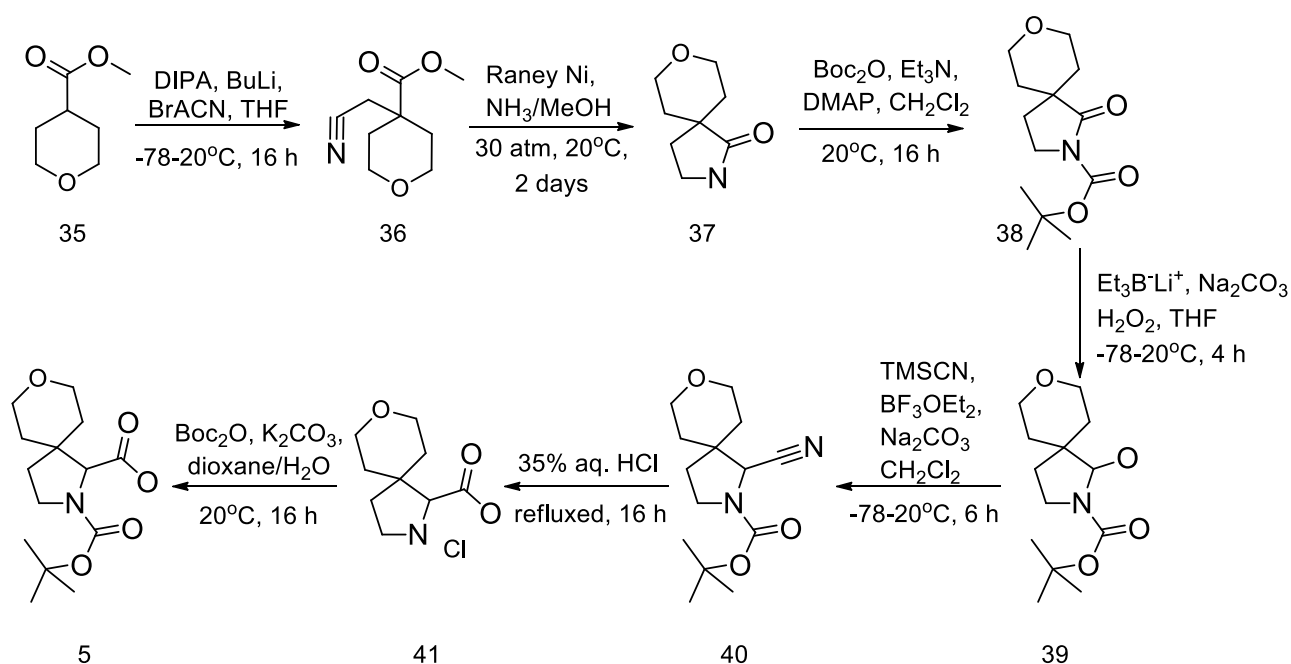


Рис. 2.5 Схема синтезу 2-(трет-бутоксикарбоніл)-8-окса-2-азаспіро[4.5]декан-1-карбонової кислоти

Сполука 36 отримувалась шляхом літіювання за допомогою ЛДА і бромацетонітрилу. Очистка проводилась за допомогою ФХ.

Отримання лактаму 37 проводилось у автоклавах високого тиску за допомогою свіжеприготованого Нікелю Ренея. Запускалась далі без очистки.

Сполука 38 отримувалась введенням у молекулу захисної групи  $\text{Boc}$ . Використовувалась далі без очистки.

Відновлення аміду 38 було здійснене за допомогою триетилборгідриду літію або супер гідриду. Реакція йде регіоселективно, тому отримана сполука 39 використовувалась далі без очистки.

Отримання нітрилу 40 відбувалось за допомогою  $\text{TMSCN}$  і ефірату трифтористого бору. Використовувалась далі без очистки.

Гідроліз нітрилу 40 проводився у водній солянці, під час реакції також відбувався побічний процес зняття захисної групи  $\text{Boc}$ , але це не впливало на синтез кінцевої сполуки. Сполука 41 запускала далі без очистки.

Кінцеву сполуку 5 було отримано шляхом повторного введення захисної групи  $\text{Boc}$  і очищено за допомогою кислотно-основної екстракції.

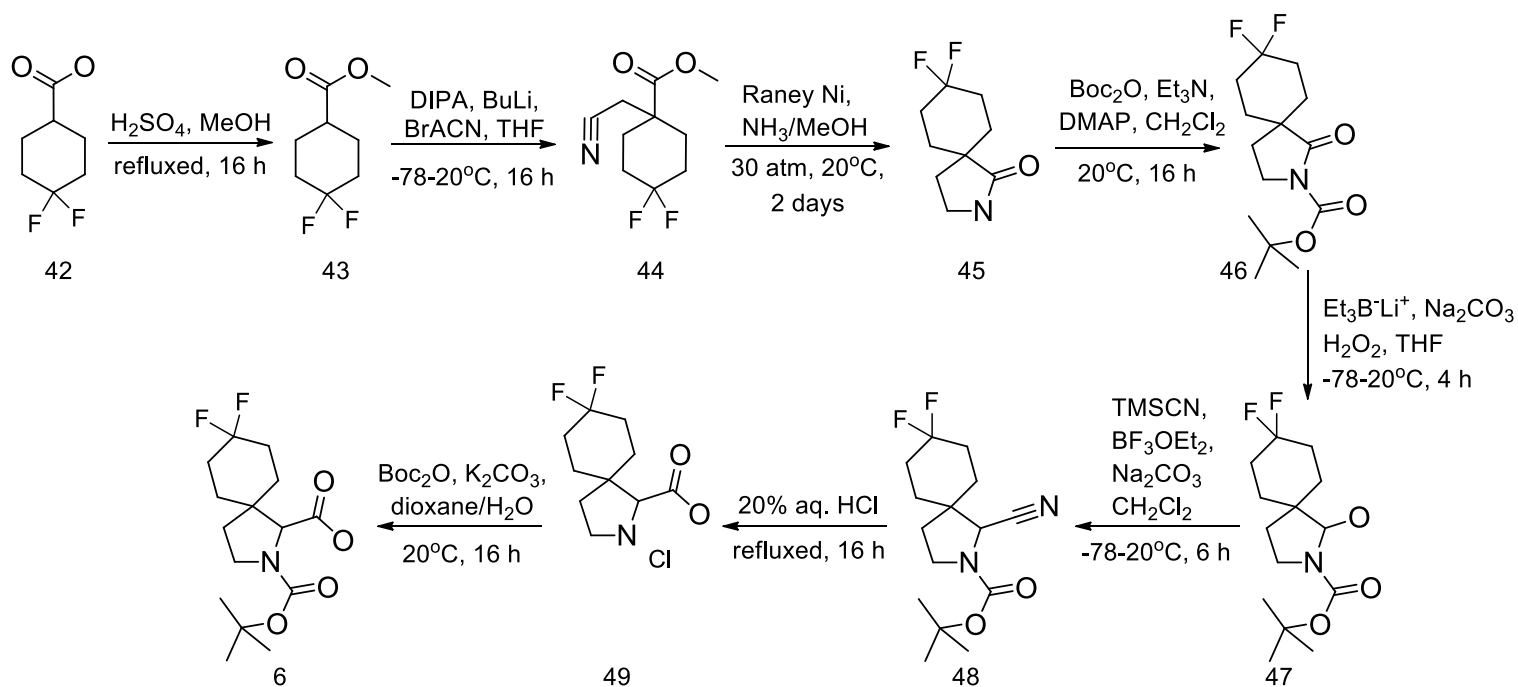


Рис. 2.5 Схема синтезу 2-(трет-бутоксикарбоніл)-8,8-дифтор-2-азаспіро[4.5]декан-1-карбонової кислоти

Сполука 43 була синтезована з відповідної кислоти 42, за допомогою поташу і метилйодиду. У наступну стадію запускала без очистки.

Сполука 44 отримувалась шляхом літіювання за допомогою ЛДА і бромацетонітрилу. Очистка проводилась за допомогою ФХ.

Отримання лактаму 45 проводилось у автоклавах високого тиску за допомогою свіжеприготованого Нікелю Ренея. Запускалась далі без очистки.

Сполука 46 отримувалась введенням у молекулу захисної групи Вос. Використовувалась далі без очистки.

Відновлення амідю 46 було здійснене за допомогою триетилборгідриду літію або супер гідриду. Реакція йде регіоселективно, тому отримана сполука 47 використовувалась далі без очистки.

Отримання нітрилу 48 відбувалось за допомогою TMSCN і ефірату трифтористого бору. Використовувалась далі без очистки.

Гідроліз нітрилу 48 проводився у водній солянці, під час реакції також відбувався побічний процес зняття захисної групи Вос, але це не впливало на синтез кінцевої сполуки. Сполука 49 запускалась далі без очистки.

Кінцеву сполуку 6 було отримано шляхом повторного введення захисної групи Вос і очищено за допомогою кислотно-основної екстракції.

## Розділ 3. Експериментальна частина

### Етил 2-циклобутилиденацетат

Гідрид натрію (81.5 г, 2 моль) був суспендований у ТГФі (400 мл), реакційну суміш було охолоджено льодом і був прикапаний реагент Хорнера (423 мл, 2.13 моль), після завершення прикапування реакційна суміш була вимішана ще 30 хвилин до завершення виділення газу. Після цього розчин сполуки 7 (130 г, 1.85 моль) в сухому ТГФі (30 мл) був прикапаний при охолодженні льодом. Реакційна суміш перемішувалась протягом 16 годин при кімнатній температурі. Після цього ТГФ був декантований, залишки продукту були вимиті однією порцією ТГФу (500 мл) і також декантовані. Декантований ТГФ був концентрований на роторному упарювачі і залишок від упарювання був очищений за допомогою перегонки на масляному насосі для отримання сполуки 8 (164.5 г, 1.17 моль).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  5.64 – 5.43 (m, 1H), 4.11 (p,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 3.18 – 2.99 (m, 2H), 2.82 (t,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 2.16 – 1.91 (m, 2H), 1.24 (q,  $J = 7.5$  Hz, 3H).

### Діетил 7-оксо-6-азаспіро[3.4]октан-5,5-дикарбоксилат

Натрій (20.66 г, 0.86 моль) був розчинений у абсолютному етанолі (2 л), потім реакційна суміш була охолоджена льодом і однією порцією був всипаний ацетамід малонового естеру (170 г, 0.78 моль), реакційна суміш вимішувалась ще годину, після цього сполука 8 (164.5 г, 1.17 моль), була влита однією порцією і реакційна суміш кип'ятилась протягом 16 годин. Далі нагрів вимикали, реактор доводили до кімнатної температури та додавали оцтову кислоту (53.7 мл, 0.94 моль). Реакційна суміш концентрували на роторному упарювачі і залишок був розведений метиленом і водою, вода промивалася ще метиленом і об'єднаний органічний шар був промитий содою і розсолем.

Метилен був посушений через сульфат натрію і концентрували на роторному упарювачі. Колба з залишком від упарювання була охолоджена льодом, через 40 хвилин випавший осад було відфільтровано і промито гексаном для отримання сполуки 9 (71 г, 0.26 моль)

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  6.19 (s, 1H), 4.30 (q,  $J = 7.1$  Hz, 4H), 2.76 (s, 2H), 2.46 – 2.28 (m, 2H), 2.04 – 1.76 (m, 4H), 1.33 (t,  $J = 7.1$  Hz, 6H).

### **Етил 7-оксо-6-азаспіро[3.4]октан-5-карбоксилат**

Сполука 9 (71 г, 0.26 моль) була розчинена у сухому ДМСО (210 мл), потім прилили воду (14.2 мл, 0.79 моль) і всипали хлорид натрію (18.5 г, 0.32 моль). Реакційну суміш кип'ятили протягом 3 годин, потім охолодили, вилили у лід з водою і екстрагували етилацетатом, етилацетат був промитий насиченим розчином хлориду натрію, посушений сульфатом натрію і концентрований на роторному упарювачі. Залишок був очищений за допомогою флеш хроматографії у системі Гексан:ЕтилАцетат (2:1) для отримання сполуки 10 (47 г, 0.24 моль).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  6.63 (s, 1H), 4.20 (qd,  $J = 7.1, 2.2$  Hz, 2H), 4.01 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 2.62 – 2.35 (m, 2H), 2.24 (dq,  $J = 12.6, 8.0, 7.2$  Hz, 1H), 2.16 – 1.94 (m, 2H), 1.87 (ddd,  $J = 18.2, 8.7, 4.4$  Hz, 3H), 1.27 (td,  $J = 7.2, 1.9$  Hz, 3H).

### **6-трет-бутил 5-етил 7-оксо-6-азаспіро[3.4]октан-5,6-дикарбоксилат**

Сполука 10 (47 г, 0.24 моль) була розчинена у метилені (500 мл), потім був прилитий триетиламін (49.8 мл, 0.36 моль) і присипаний ДМАП (2.9 г, 0.024 моль), після цього  $\text{Woc}_2\text{O}$  (60 мл, 0.26 моль) був прикапаний при охолодженні льодом. Реакційна суміш перемішувалась протягом 16 годин при кімнатній температурі. Потім реакційна суміш була промита водним розчином

гідросульфату натрію, метилен був посушений за допомогою сульфату натрію і концентрований на роторному упарювачі для отримання сполуки 11 (58 г, 0.195 моль).

$^1\text{H NMR}$  (500 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  4.40 (s, 1H), 4.21 (pd,  $J = 7.2, 4.1$  Hz, 2H), 2.76 – 2.54 (m, 2H), 2.25 – 2.07 (m, 2H), 2.06 – 1.74 (m, 5H), 1.46 (s, 8H), 1.26 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H).

### **6-трет-бутил 5-етил 6-азаспіро[3.4]октан-5,6-дикарбоксилат**

Сполука 11 (58 г, 0.195 моль) була розчинена у ТГФі (600 мл) і під током аргону був прикапаний Боран ДМС (29.6 мл, 0.312 моль), охолодження проводилось водою. Реакційну суміш залишили мішатись 16 годин при кімнатній температурі. Потім при охолодженні льодом, у реакційну суміш був обережно прикапаний насичений розчин поташа (108 г, 0.78 моль). Після прикапування реакційна суміш виливалась у МТБЕ, водний шар відділявся, ще раз промивався МТБЕ, об'єднаний органічний шар промивався розсолем, висушувався за допомогою сульфату натрію і концентрований на роторному упарювачі. Залишок був очищений за допомогою флешхроматографії у системі Гексан:ЕтилАцетат (5:1) для отримання сполуки 12 (42 г, 0.148 моль)

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  4.15 (ddtd,  $J = 18.0, 14.3, 10.9, 9.8, 7.0$  Hz, 2H), 4.01 (d,  $J = 37.7$  Hz, 1H), 3.54 (dddd,  $J = 25.0, 10.6, 8.3, 2.6$  Hz, 1H), 3.26 (ddt,  $J = 15.2, 9.6, 5.2$  Hz, 1H), 2.27 – 2.07 (m, 1H), 2.07 – 1.76 (m, 5H), 1.70 (ddt,  $J = 11.4, 8.2, 4.0$  Hz, 1H), 1.39 (d,  $J = 17.2$  Hz, 9H), 1.23 (q,  $J = 6.7$  Hz, 3H).

### **6-(трет-бутоксикарбоніл)-6-азаспіро[3.4]октан-5-карбонова кислота**

Гідроксид калію (25 г, 0.444 моль) був розчинений у метанолі (420 мл), охолоджений до кімнатної температури і сполука 12 (42 г, 0.148 моль) була додана однією порцією. Реакційну суміш залишили мішатись 16 годин при

кімнатній температурі. Потім реакційну суміш концентрований на роторному упарювачі, залишок розчиняли у воді, воду промили МТБЕ, підкислили гідросульфатом натрію (62.3 г, 0.52 моль), екстрагували ЕА, посушили за допомогою сульфату натрію і концентрований на роторному упарювачі для отримання сполуки 1 (33 г, 0.13 моль).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.39 (s, 1H), 4.09 (d,  $J = 43.2$  Hz, 1H), 3.71 – 3.44 (m, 1H), 3.44 – 3.22 (m, 1H), 2.47 – 2.19 (m, 1H), 2.19 – 1.70 (m, 7H), 1.44 (d,  $J = 18.2$  Hz, 9H).

### **трет-бутил 3-(2-етокси-2-оксотетиліден)азетидин-1-карбоксилат**

Сполука 13 (120 г, 0.7 моль) була розчинена у метилені (1.2 л), потім при охолодженні льодом порціонно був присипаний етил трифенілфосфаніліден ацетат (293 г, 0.85 моль). Реакційна суміш мішалась при кімнатній температурі протягом ночі. Потім реакційна суміш була концентрована на роторному упарювачі і залишок після упарювання затирався у суміші розчинників гексан/МТБЕ (4:1), трифенілфосфін відфільтровувався і фільтрат концентрувався на роторному упарювачі, після цього залишок очищався за допомогою ФХ у системі гексан/ЕА (3:1) для отримання сполуки 14 (162.5 г, 0.67 моль)

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  5.70 (q,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 4.79 – 4.71 (m, 2H), 4.52 (td,  $J = 3.4, 2.1$  Hz, 2H), 4.10 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 1.38 (s, 9H), 1.20 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H).

### **2-трет-бутил 5-етил 7-оксо-2,6-діазаспіро[3.4]октан-2,5-дикарбоксилат**

Натрій (16.6 г, 0.67 моль) був розчинений у абсолютному етанолі (1.6 л), потім реакційна суміш була охолоджена льодом і однією порцією був всипаний ацетамід малонового естеру (133 г, 0.61 моль), реакційна суміш вимішувалась

ще годину, після цього сполука 14 (162.5 г, 0.67 моль), була влита однією порцією і реакційна суміш кип'ятилась протягом 36 годин. Далі нагрів вимикали, реактор доводили до кімнатної температури та додавали оцтову кислоту (36.8 мл, 0.64 моль). Реакційна суміш концентрували на роторному упарювачі і залишок був розведений метиленом і водою, вода промивалася ще метиленом і об'єднаний органічний шар був промитий содою і розсоллом. Метилен був посушений через сульфат натрію і концентрували на роторному упарювачі. У колбу з залишком після упарювання заливалася суміш розчинників гексан/МТБЕ (4:1), проводилось охолодження льодом, випавший осад відфільтровувався і промивався МТБЕ для отримання сполуки 15 (65,5 г, 0.22 моль).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  7.04 (s, 1H), 4.29 – 4.13 (m, 2H), 4.06 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 1H), 3.85 (d,  $J$  = 9.0 Hz, 2H), 3.73 (d,  $J$  = 9.4 Hz, 1H), 2.74 – 2.50 (m, 2H), 1.37 (s, 10H), 1.25 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 3H).

#### **етил 7-оксо-2,6-діазаспіро[3.4]октан-5-карбоксилат**

Сполука 15 (65.5 г, 0.22 моль) була розчинена у метилені (250 мл), реакційна суміш була охолоджена льодом і була прикапана трифтороцтова кислота (250 мл). Реакційна суміш мішалась при кімнатній температурі протягом ночі. Потім реакційна суміш була концентрована на роторному упарювачі, залишок після упарювання був залитий МТБЕ і перемішувався так протягом години, потім МТБЕ був здекантований і отриманий трифторацетат сполуки 16 (57.3 г, 0.18 моль) запускався без додаткової очистки у наступну стадію.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.07 (d,  $J$  = 92.5 Hz, 2H), 8.18 (s, 1H), 4.47 – 4.34 (m, 1H), 4.19 (q,  $J$  = 7.0 Hz, 3H), 3.96 (p,  $J$  = 5.4 Hz, 3H), 3.07 (d,  $J$  = 1.2 Hz, 1H), 1.24 (dd,  $J$  = 7.8, 6.5 Hz, 3H).

### **2-бензил 5-етил 7-оксо-2,6-діазаспіро[3.4]октан-2,5-дикарбоксилат**

Сполука 16 (57.3 г, 0.18 моль) була розчинена у системі ТГФ/вода (570/285 мл), порціонно був присипаний  $\text{NaHCO}_3$  (34 г, 0.4 моль) і потім  $\text{CbzCl}$  (31.3 мл, 0.22 моль) був повільно прикапаний. Реакційна суміш мішалась при кімнатній температурі протягом ночі. Потім реакційна суміш була вилита у ЕА, органічний шар був відділений, промитий насиченим розчином хлориду натрію, посушений сульфатом натрію і концентрований на роторному упарювачі для отримання сполуки 17 (53 г, 0.16 моль) яка використовувалась далі без додаткової очистки.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  7.44 – 7.20 (m, 12H), 7.12 (s, 1H), 5.07 (s, 2H), 4.27 – 4.12 (m, 4H), 4.02 – 3.90 (m, 2H), 3.84 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H), 2.78 – 2.54 (m, 2H), 1.22 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H).

### **2-бензил 6-трет-бутил 5-етил 7-оксо-2,6-діазаспіро[3.4]октан- 2,5,6-трикарбоксилат**

Сполуки 17 (53 г, 0.16 моль) була розчинена у метилені (530 мл), були додані триетиламін (33.3 мл, 0.24 моль) і ДМАП (1.95 г, 0.016 моль), після цього реакційну суміш було охолоджено льодом і  $\text{Woc}_2\text{O}$  (40.3 мл, 0.175 моль) був прикапаний. Реакційна суміш мішалась при кімнатній температурі протягом ночі. Потім реакційна суміш була промита водою і водним розчином гідросульфату, органічний шар був посушений сульфатом натрію і концентрований на роторному упарювачі. Залишок заливався МТБЕ і переупарювався, після упарювання був залитий дієтивий ефір і випавший осад відфільтровувався для отримання сполуки 18 (46 г, 0.09 моль).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  7.39 – 7.25 (m, 5H), 5.13 – 5.00 (m, 2H), 4.61 (s, 1H), 4.23 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 4.15 – 4.00 (m, 3H), 3.88 (dd,  $J = 30.7, 9.0$  Hz, 2H), 2.94 – 2.66 (m, 2H), 1.47 (s, 9H), 1.28 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H).

### **2-бензил 6-трет-бутил 5-етил 2,6-діазаспіро[3.4]октан-2,5,6-трикарбоксилат**

Сполука 18 (46 г, 0.09 моль) була розчинена у ТГФі (460 мл) і під током аргону був прикапаний Боран ДМС (22.8 мл, 0.24 моль), охолодження проводилось водою. Реакційну суміш залишили мішатись 16 годин при кімнатній температурі. Потім при охолодженні льодом, у реакційну суміш був обережно прикапаний насичений розчин поташа (64 г, 0.462 моль). Після прикапування реакційна суміш виливалась у МТБЕ, водний шар відділявся, ще раз промивався МТБЕ, об'єднаний органічний шар промивався розсолем, висушувався за допомогою сульфату натрію і концентрований на роторному упарювачі. Залишок був очищений за допомогою ФХ у системі Гексан:ЕтилАцетат (5:1) для отримання сполуки 19 ()

### **<sup>1</sup>H NMR**

### **2-((бензилокси)карбоніл)-6-(трет-бутоксикарбоніл)-2,6-діазаспіро[3.4]октан-5-карбонова кислота**

Гідроксид калію () був розчинений у метанолі (), охолоджений до кімнатної температури і сполука 19 () була додана однією порцією. Реакційну суміш залишили мішатись 16 годин при кімнатній температурі. Потім реакційну суміш концентрований на роторному упарювачі, залишок розчиняли у воді, воду промили МТБЕ, підкислили гідросульфатом натрію (), екстрагували ЕА, посушили за допомогою сульфату натрію і концентрований на роторному упарювачі для отримання сполуки 2 ().

### **Метил циклопентанкарбоксилат**

Сполука 20 (150 г, 1.31 моль) була розчинена у метанолі (1.2 л), потім була долита сірчана кислота (35.2 мл, 0.657 моль) і реакційна суміш кип`ятилась протягом 16 годин. Потім реакційна суміш була охолоджена, розчинник був концентрований на роторному упарювачі, залишок був розчинений у метилені і промитий водним розчином соди. Органічний шар був посушений за допомогою сульфату натрію і концентрований на роторному упарювачі для отримання сполуки 21 (60 г, 0.47 моль).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  3.62 (s, 4H), 2.74 – 2.62 (m, 1H), 1.91 – 1.44 (m, 8H).

#### **метил 1-(ціанометил)циклопентанкарбоксилат**

ДПА (73 мл, 0.515 моль) був розчинений у сухому ТГФі, охолоджений до  $-78^\circ\text{C}$  і бутиллітій (206 мл, 16% розчин у гексані, 0.515 моль) був влитий однією порцією, реакційна суміш перемішувалась протягом 30 хвилин при  $-20^\circ\text{C}$ . Потім при  $-78^\circ\text{C}$  була прикапана сполука 21 (60 г, 0.47 моль) у ТГФі (50 мл), реакційна суміш перемішувалась при  $-78^\circ\text{C}$  протягом 1 години. Після цього при  $-78^\circ\text{C}$  був прикапаний бромацетонітрил (39 мл, 0.56 моль) у ТГФі (30 мл). Реакційна суміш перемішувалась при кімнатній температурі протягом 16 годин. Потім реакційна суміш була охолоджена до  $0^\circ\text{C}$  і був прикапаний водний розчин аммоній хлориду (200 мл). Реакційна суміш була вилита у ЕА, вода ще раз промита ЕА і об'єднаний органічний шар був посушений за допомогою сульфату натрію і концентрований на роторному упарювачі, залишок був очищений за допомогою ФХ у системі гексан:ЕА (5:1) для отримання сполуки 22 (33 г, 0.197 моль).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  3.76 – 3.69 (m, 3H), 2.64 – 2.59 (m, 2H), 2.16 (ddt,  $J = 11.8, 8.4, 4.2$  Hz, 2H), 1.86 – 1.63 (m, 6H).

### **2-азаспіро[4.4]нонан-1-он**

Свіжеприготовлений Нікель Ренея був поміщений у автоклав, потім туди був доданий розчин сполуки 22 (33 г, 0.197 моль) у амміачному метанолі (600 мл) і реакційна суміш у автоклаві перемішувалась при кімнатній температурі протягом двох днів під тиском 50 атм. Після цього реакційна суміш була відфільтрована, метанол був концентрований на роторному упарювачі для отримання сполуки 23 (18 г, 0.13 моль).

$^1\text{H NMR}$  (500 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  6.34 (s, 1H), 3.29 (t,  $J = 6.7$  Hz, 2H), 2.07 – 1.85 (m, 4H), 1.85 – 1.70 (m, 2H), 1.70 – 1.45 (m, 4H).

### **трет-бутил 1-оксо-2-азаспіро[4.4]нонан-2-карбоксилат**

Сполука 23 (18 г, 0.13 моль) була розчинена у метилені, були додані триетиламін (27 мл, 0.19 моль) і ДМАП (1.58 г, 0.013 моль), після цього реакційну суміш було охолоджено льодом і  $\text{Woc}_2\text{O}$  (32.7 мл, 0.142 моль) був прикапаний. Реакційна суміш перемішувалась при кімнатній температурі протягом 16 годин. Після цього реакційна суміш була промита насиченим розчином хлориду натрію і водним розчином гідросульфату, посушена за допомогою сульфату натрію і концентрована на роторному упарювачі для отримання сполуки 24 (30 г, 0.125 моль).

$^1\text{H NMR}$  (500 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  3.60 (t,  $J = 6.9$  Hz, 2H), 1.94 (dt,  $J = 12.5$ , 6.7 Hz, 2H), 1.83 (t,  $J = 6.9$  Hz, 2H), 1.77 (dp,  $J = 10.4$ , 4.3, 3.4 Hz, 2H), 1.63 (ddt,  $J = 12.2$ , 9.2, 4.2 Hz, 2H), 1.49 (s, 10H).

### **трет-бутил 1-гідрокси-2-азаспіро[4.4]нонан-2-карбоксилат**

Сполуки 24 (30 г, 0.125 моль) була розчинена у сухому ТГФі (600 мл) охолоджена до  $-78^\circ\text{C}$  і при цій температурі був повільно вкапаний триетилборгідрид літію (159.4 мл, 10% розчин у ТГФ, 0.15 моль), реакційна суміш перемішувалась при  $-78^\circ\text{C}$  ще 30 хвилин, потім при цій температурі був

прикапаний насичений розчин карбонату натрію (40 г, 0.37 моль), температура реакційної суміші була піднята до 0С і був прикапаний пероксид водню (13.9 мл, 0.57 моль). Реакційна суміш мішалась ще 30 хвилин і була вилита у ЕА, органічний шар був відділений, посушений за допомогою сульфату натрію і концентрована на роторному упарювачі для отримання сполуки 25 (22 г, 0.091 моль).

<sup>1</sup>HNMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 4.91 (d, *J* = 52.7 Hz, 1H), 3.48 (dt, *J* = 19.4, 9.7 Hz, 1H), 3.40 – 3.13 (m, 2H), 2.12 – 1.87 (m, 2H), 1.74 – 1.56 (m, *J* = 6.9 Hz, 6H), 1.49 (q, *J* = 9.2, 8.2 Hz, 14H).

#### **трет-бутил 1-ціано-2-азаспіро[4.4]нонан-2-карбоксилат**

Сполуки 25 (22 г, 0.091 моль) і TMSCN (28.5 мл, 0.228 моль) були змішані у сухому метилені (400 мл), охолоджені до -78°C і до реакційної суміші був прикапаний ефірат трифтористого бору (34.5 мл, 0.27 моль), реакційна суміш перемішувалась при -78°C ще протягом 4 годин, потім при цій температурі був прикапаний насичений розчин карбонату натрію (48.3 г, 0.456 моль), температура була піднята до кімнатної, реакційна суміш була вилита у суміш метилену з водою, органічний шар був відділений, посушений за допомогою сульфату натрію і концентрована на роторному упарювачі, залишок був очищений за допомогою ФХ у системі гексан:ЕА (5:1) для отримання сполуки 26 (23 г, 0.092 моль).

<sup>1</sup>HNMR

#### **гідрохлорид 2-азаспіро[4.4]нонан-1-карбонової кислоти**

Сполука 26 (23 г, 0.092 моль) була вилита у водний розчин соляної кислоти. Реакційна суміш кип'ятилась протягом 16 годин. Потім реакційна суміш була охолоджена, промита МТБЕ і водний шар був концентрована на роторному

упарювачі для отримання сполуки 27 (), яка запускалась далі без додаткової очистки.

### **2-(трет-бутоксикарбоніл)-2-азаспіро[4.4]нонан-1-карбонова кислота**

Сполука 27 () була розчинений у системі діоксан/вода (), потім до реакційної суміші був порціонно присипаний карбонат калію () і прикапаний  $\text{Vos}_2\text{O}$  (). Реакційна суміш перемішувалась при кімнатній температурі протягом 16 годин. Потім реакційна суміш була вилита у воду, промита МТБЕ, водний шар був підкислений гідросульфатом натрію (), потім водний шар був екстрагований ЕА, органічний шар був посушений за допомогою сульфату натрію і концентрована на роторному упарювачі для отримання сполуки 3

### **$^1\text{H}$ NMR**

#### **метил 1-(ціанометил)циклогексанкарбоксилат**

ДПА (155.6 мл, 1.1 моль) був розчинений у сухому ТГФі (1.5 л), охолоджений до  $-78^\circ\text{C}$  і бутиллітій (440 мл, 16% розчин у гексані, 1.1 моль) був влитий однією порцією, реакційна суміш перемішувалась протягом 30 хвилин при  $-20^\circ\text{C}$ . Потім при  $-78^\circ\text{C}$  була прикапана сполука 28 (120 г, 0.84 моль) у ТГФі (100 мл), реакційна суміш перемішувалась при  $-78^\circ\text{C}$  протягом 1 години. Після цього при  $-78^\circ\text{C}$  був прикапаний бромацетонітрил (70.5 мл, 1 моль) у ТГФі (100 мл). Реакційна суміш перемішувалась при кімнатній температурі протягом 16 годин. Потім реакційна суміш була охолоджена до  $0^\circ\text{C}$  і був прикапаний водний розчин аммоній хлориду (300 мл). Реакційна суміш була вилита у ЕА, вода ще раз промита ЕА і об'єднаний органічний шар був посушений за допомогою сульфату натрію і концентрований на роторному упарювачі, залишок був очищений за допомогою ФХ у системі гексан:ЕА (5:1) для отримання сполуки 29 (60 г, 0.33 моль).

$^1\text{H NMR}$  (500 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  3.73 (s, 3H), 2.56 (s, 2H), 2.06 (t,  $J = 7.9$  Hz, 2H), 1.69 – 1.38 (m, 8H).

### **2-азаспіро[4.5]декан-1-он**

Свіжоприготовлений Нікель Ренея був поміщений у автоклав, потім туди був доданий розчин сполуки 29 (90 г, 0.33 моль) амміачному метанолі (1.8 л) і реакційна суміш у автоклаві перемішувалась при кімнатній температурі протягом двох днів з тиском 50 атм. Після цього реакційна суміш була відфільтрована, метанол був концентрований на роторному упарювачі для отримання сполуки 30 (65.6 г, 0.43 моль).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  7.41 (s, 1H), 3.11 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 1.87 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 1.61 (d,  $J = 12.8$  Hz, 3H), 1.30 (ddt,  $J = 56.6, 45.0, 12.2$  Hz, 7H).

### **трет-бутил 1-оксо-2-азаспіро[4.5]декан-2-карбоксилат**

Сполука 30 (65.6 г, 0.43 моль) була розчинена у метилені (700 мл), були додані триетиламін (89.5 мл, 0.64 моль) і ДМАП (5.23 г, 0.043 моль), після цього реакційну суміш було охолоджено льодом і  $\text{Woc}_2\text{O}$  (118 мл, 0.51 моль) був прикапаний. Реакційна суміш перемішувалась при кімнатній температурі протягом 16 годин. Після цього реакційна суміш була промита насиченим розчином хлориду натрію і водним розчином гідросульфату, посушена за допомогою сульфату натрію і концентрована на роторному упарювачі для отримання сполуки 31 (71.3 г, 0.28 моль).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  3.65 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 1.91 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 1.79 – 1.59 (m, 6H), 1.54 (s, 8H), 1.52 – 1.25 (m, 5H).

### **трет-бутил 1-гідрокси-2-азаспіро[4.5]декан-2-карбоксилат**

Сполука 31 (71.3 г, 0.28 моль) була розчинена у сухому ТГФі (1.4 л) охолоджена до  $-78^{\circ}\text{C}$  і при цій температурі був повільно вкапаний триетилборгідрид літію (238.5 мл, 15% розчин у гексані, 0.338 моль), реакційна суміш перемішувалась при  $-78^{\circ}\text{C}$  ще 30 хвилин, потім при цій температурі був прикапаний насичений розчин карбонату натрію (89.5 г, 0.844 моль), температура реакційної суміші була піднята до  $0^{\circ}\text{C}$  і був прикапаний пероксид водню (31.3 мл, 1.3 моль). Реакційна суміш мішалась ще 30 хвилин і була вилита у ЕА, органічний шар був відділений, посушений за допомогою сульфату натрію і концентрована на роторному упарювачі для отримання сполуки 32 (70 г, 0.274 моль).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  4.99 (d,  $J = 55.2$  Hz, 1H), 3.53 – 3.13 (m, 3H), 1.73 (dtd,  $J = 60.8, 12.6, 8.5$  Hz, 3H), 1.43 (h,  $J = 10.1, 9.3$  Hz, 19H).

#### **трет-бутил 1-ціано-2-азаспіро[4.5]декан-2-карбоксилат**

Сполука 32 (70 г, 0.274 моль) і TMSCN (85.7 мл, 0.685 моль) були змішані у сухому метилені (1.1 л), охолоджені до  $-78^{\circ}\text{C}$  і до реакційної суміші був прикапаний ефірат трифтористого бору (103.7 мл, 0.82 моль), реакційна суміш перемішувалась при  $-78^{\circ}\text{C}$  ще протягом 4 годин, потім при цій температурі був прикапаний насичений розчин карбонату натрію (87.2 г, 0.82 моль), температура була піднята до кімнатної, реакційна суміш була вилита у суміш метилену з водою, органічний шар був відділений, посушений за допомогою сульфату натрію і концентрована на роторному упарювачі для отримання сполуки 33 (60 г, 0.227 моль).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  4.29 (d,  $J = 68.4$  Hz, 1H), 3.59 – 3.26 (m, 2H), 1.93 – 1.59 (m, 4H), 1.48 (d,  $J = 15.3$  Hz, 17H).

#### **Гідрохлорид 2-азаспіро[4.5]декан-1-карбонової кислоти**

Сполука 33 була вилита у водний розчин соляної кислоти. Реакційна суміш кип'ятилась протягом 16 годин. Потім реакційна суміш була охолоджена, промита МТБЕ і водний шар був концентрована на роторному упарювачі для отримання гідрохлориду сполуки 34 (50 г, 0.227 моль).

### **2-(трет-бутоксикарбоніл)-2-азаспіро[4.5]декан-1-карбонова кислота**

Сполука 34 (50 г, 0.227 моль) була розчинена у системі діоксан/вода (500/250 мл), потім до реакційної суміші був порціонно присипаний карбонат калію (94.4 г, 0.68 моль) і прикапаний  $\text{Woc}_2\text{O}$  (62.8 мл, 0.273 моль). Реакційна суміш перемішувалась при кімнатній температурі протягом 16 годин. Потім реакційна суміш була вилита у воду, промита МТБЕ, водний шар був підкислений гідросульфатом натрію (95.6 г, 0.79 моль), потім вода була екстрагований ЕА, органічний шар був посушений за допомогою сульфату натрію і концентрована на роторному упарювачі для отримання сполуки 4 (36 г, 0.127 моль).

$^1\text{H NMR}$  (500 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  3.97 (d,  $J = 68.2$  Hz, 1H), 3.66 – 3.48 (m, 1H), 3.39 (dt,  $J = 18.8, 9.0$  Hz, 1H), 1.82 (tdd,  $J = 13.3, 11.0, 9.8, 6.5$  Hz, 2H), 1.67 – 1.46 (m, 10H), 1.42 (d,  $J = 19.8$  Hz, 10H).

### **метил 4-(ціанометил)тетрагідро-2H-піран-4-карбоксилат**

ДПА (153 мл, 1.08 моль) був розчинений у сухому ТГФі (1.5 л), охолоджений до  $-78^\circ\text{C}$  і бутиллітій (433 мл, 16% розчин у гексані, 1.08 моль) був влитий однією порцією, реакційна суміш перемішувалась протягом 30 хвилин при  $-20^\circ\text{C}$ . Потім при  $-78^\circ\text{C}$  була прикапана сполука 35 (120 г, 0.83 моль) у ТГФі (100 мл), реакційна суміш перемішувалась при  $-78^\circ\text{C}$  протягом 1 години. Після цього при  $-78^\circ\text{C}$  був прикапаний бромацетонітрил (69.6 мл, 1 моль) у ТГФі. Реакційна суміш перемішувалась при кімнатній температурі протягом 16

годин. Потім реакційна суміш була охолоджена до 0С і був прикапаний водний розчин аммоній хлориду (300 мл). Реакційна суміш була вилита у ЕА, вода ще раз промита ЕА і об'єднаний органічний шар був посушений за допомогою сульфату натрію і концентрований на роторному упарювачі, залишок був очищений за допомогою ФХ у системі гексан:ЕА (5:1) для отримання сполуки 36 (66 г, 0.36 моль).

<sup>1</sup>HNMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 3.85 – 3.71 (m, 5H), 3.51 (ddt, *J* = 12.3, 10.3, 2.1 Hz, 2H), 2.58 (d, *J* = 1.7 Hz, 2H), 2.13 (dp, *J* = 13.6, 2.1 Hz, 2H), 1.64 (dddd, *J* = 14.3, 10.3, 4.4, 1.7 Hz, 2H).

#### **8-окса-2-азаспіро[4.5]декан-1-он**

Свіжоприготовлений Нікель Ренея був поміщений у автоклав, потім туди був доданий розчин сполуки 36 (66 г, 0.36 моль) у амміачному метанолі (1.3 л) і реакційна суміш у автоклаві перемішувалась при кімнатній температурі протягом двох днів з тиском 50 атм. Після цього реакційна суміш була сфільтрована, метанол був концентрований на роторному упарювачі для отримання сполуки 37 (48 г, 0.31 моль)

<sup>1</sup>HNMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.13 (s, 1H), 3.96 (dt, *J* = 11.8, 4.0 Hz, 2H), 3.51 (td, *J* = 11.4, 2.5 Hz, 2H), 3.34 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 2.10 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 1.97 (ddd, *J* = 15.4, 11.3, 4.4 Hz, 2H), 1.35 (d, *J* = 13.4 Hz, 2H).

#### **трет-бутил 1-оксо-8-окса-2-азаспіро[4.5]декан-2-карбоксилат**

Сполука 37 (48 г, 0.31 моль) була розчинена у метилені (500 мл), були додані триетиламін (64.6 мл, 0.46 моль) і ДМАП (3.78 г, 0.031 моль), після цього реакційну суміш було охолоджено льодом і Вос<sub>2</sub>О (78 мл, 0.34 моль) був прикапаний. Реакційна суміш перемішувалась при кімнатній температурі протягом 16 годин. Після цього реакційна суміш була промита насиченим

розчином хлориду натрію і водним розчином гідросульфату, посушена за допомогою сульфату натрію і концентрована на роторному упарювачі для отримання сполуки 38 (74 г, 0.29 моль).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  3.95 (dq,  $J = 11.4, 3.6$  Hz, 2H), 3.66 (td,  $J = 7.1, 2.4$  Hz, 2H), 3.60 – 3.41 (m, 2H), 1.97 (ddt,  $J = 10.0, 7.2, 2.9$  Hz, 4H), 1.50 (d,  $J = 2.4$  Hz, 9H), 1.39 (d,  $J = 13.2$  Hz, 2H).

### **трет-бутил 1-гідрокси-8-окса-2-азаспіро[4.5]декан-2-карбоксилат**

Сполука 38 (74 г, 0.29 моль) була розчинена у сухому ТГФі (1.5 л) охолоджена до  $-78^\circ\text{C}$  і при цій температурі був повільно вкапаний триетилборгідрид літію (368 мл, 10% розчин у ТГФі, 0.35 моль), реакційна суміш перемішувалась при  $-78^\circ\text{C}$  ще 30 хвилин, потім при цій температурі був прикапаний насичений розчин карбонату натрію (92.1 г, 0.87 моль), температура реакційної суміші була піднята до  $0^\circ\text{C}$  і був прикапаний пероксид водню (32.2 мл, 1.32 моль). Реакційна суміш мішалась ще 30 хвилин і була вилита у ЕА, органічний шар був відділений, посушений за допомогою сульфату натрію і концентрована на роторному упарювачі для отримання сполуки 39 (80 г, 0.31 моль).

$^1\text{H NMR}$  (500 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  5.10 (d,  $J = 85.6$  Hz, 1H), 3.56 – 3.19 (m, 2H), 1.99 – 1.70 (m, 4H), 1.47 (d,  $J = 16.0$  Hz, 15H).

### **трет-бутил 1-ціано-8-окса-2-азаспіро[4.5]декан-2-карбоксилат**

Сполука 39 (80 г, 0.31 моль) і TMSCN (97.2 мл 0.777 моль) були змішані у сухому метилені (1.3 л), охолоджені до  $-78^\circ\text{C}$  і до реакційної суміші був прикапаний ефірат трифтористого бору (117.6 мл, 0.93 моль), реакційна суміш перемішувалась при  $-78^\circ\text{C}$  ще протягом 4 годин, потім при цій температурі був прикапаний насичений розчин карбонату натрію (131.8 г, 1.24 моль), температура була піднята до кімнатної, реакційна суміш була вилита у суміш

метилену з водою, органічний шар був відділений, посушений за допомогою сульфату натрію і концентрована на роторному упарювачі для отримання сполуки 40 (71 г, 0.266 моль)

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  4.33 (d,  $J = 85.9$  Hz, 1H), 3.57 – 3.23 (m, 2H), 2.02 – 1.65 (m, 4H), 1.53 (dt,  $J = 12.1, 6.2$  Hz, 3H), 1.45 (s, 4H), 1.38 (d,  $J = 1.6$  Hz, 7H).

### **Гідрохлорид 8-окса-2-азаспіро[4.5]декан-1-карбонової кислоти**

Сполука 40 була висипана у водний розчин соляної кислоти. Реакційна суміш кип'ятилась протягом 16 годин. Потім реакційна суміш була охолоджена, промита МТБЕ і водний шар був концентрована на роторному упарювачі для отримання гідрохлориду сполуки 41 (59 г, 0.266 моль)

### **2-(трет-бутоксикарбоніл)-8-окса-2-азаспіро[4.5]декан-1-карбонова кислота**

Сполука 41 (59 г, 0.266 моль) була розчинена у системі діоксан/вода (590/295 мл), потім до реакційної суміші був порціонно присипаний карбонат калію (92 г, 0.665 моль) і прикапаний  $\text{Woc}_2\text{O}$  (73.45 мл, 0.32 моль). Реакційна суміш перемішувалась при кімнатній температурі протягом 16 годин. Потім реакційна суміш була вилита у воду, промита МТБЕ, водний шар був підкислений гідросульфатом натрію (95.8 г, 0.8 моль), потім водний шар був екстрагований ЕА, органічний шар був посушений за допомогою сульфату натрію і концентрована на роторному упарювачі для отримання сполуки 5 (28 г, 0.1 моль)

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.34 (s, 1H), 4.09 (d,  $J = 66.1$  Hz, 1H), 3.85 – 3.29 (m, 6H), 2.05 – 1.82 (m, 2H), 1.82 – 1.62 (m, 2H), 1.41 (d,  $J = 14.4$  Hz, 10H).

**метил 4,4-дифторциклогексанкарбоксилат**

Сполука 42 (145 г, 0.883 моль) була розчинена у метанолі (1.2 л), потім була долита сірчана кислота (43.3 мл, 0.44 моль) і реакційна суміш кип`ятилась протягом 16 годин. Потім реакційна суміш була охолоджена, розчинник був концентрований на роторному упарювачі, залишок був розчинений у метилені і промитий водним розчином соди. Органічний шар був посушений за допомогою сульфату натрію і концентрований на роторному упарювачі для отримання сполуки 43 (135 г, 0.757 моль).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  3.66 (d,  $J = 1.4$  Hz, 3H), 2.39 (tt,  $J = 9.7, 3.6$  Hz, 1H), 2.13 – 1.89 (m, 5H), 1.89 – 1.60 (m, 4H).

**метил 1-(ціанометил)-4,4-дифторциклогексанкарбоксилат**

ДПА (140 мл, 0.98 моль) був розчинений у сухому ТГФі (1.4 л), охолоджений до  $-78^\circ\text{C}$  і бутиллітій (394.3 мл, 16% розчин у гексані, 0.98 моль) був влитий однією порцією, реакційна суміш перемішувалась протягом 30 хвилин при  $-20^\circ\text{C}$ . Потім при  $-78^\circ\text{C}$  була прикапана сполука 43 (135 г, 0.757 моль) у ТГФі (100 мл), реакційна суміш перемішувалась при  $-78^\circ\text{C}$  протягом 1 години. Після цього при  $-78^\circ\text{C}$  був прикапаний бромацетонітрил (63.3 мл, 0.91 моль) у ТГФі (60 мл). Реакційна суміш перемішувалась при кімнатній температурі протягом 16 годин. Потім реакційна суміш була охолоджена до  $0^\circ\text{C}$  і був прикапаний водний розчин аммоній хлориду (300 мл). Реакційна суміш була вилита у ЕА, вода ще раз промита ЕА і об'єднаний органічний шар був посушений за допомогою сульфату натрію і концентрований на роторному упарювачі, залишок був очищений за допомогою ФХ у системі гексан:ЕА (5:1) для отримання сполуки 44 (66 г, 0.304 моль).

$^1\text{H NMR}$  (500 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  3.80 (s, 3H), 2.60 (s, 2H), 2.29 (dd,  $J = 12.5, 5.7$  Hz, 2H), 2.09 – 1.83 (m, 3H), 1.73 (td,  $J = 13.0, 4.4$  Hz, 2H).

### **8,8-дифтор-2-азаспіро[4.5]декан-1-он**

Свіжоприготовлений Нікель Ренея був поміщений у автоклав, потім туди був доданий розчин сполуки 44 (66 г, 0.304 моль) у амміачному метанолі (1.3 л) і реакційна суміш у автоклаві перемішувалась при кімнатній температурі протягом двох днів під тиском 50 атм. Після цього реакційна суміш була сфільтрована, метанол був концентрований на роторному упарювачі для отримання сполуки 45 (40 г, 0.211 моль).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  3.16 (t,  $J = 6.7$  Hz, 2H), 2.17 – 1.59 (m, 6H), 1.49 (d,  $J = 13.5$  Hz, 2H).

### **трет-бутил 8,8-дифтор-1-оксо-2-азаспіро[4.5]декан-2-карбоксилат**

Сполука 45 (40 г, 0.211 моль) була розчинена у метилені (400 мл), були додані триетиламін (44.2 мл, 0.32 моль) і ДМАП (2.6 г, 0.021 моль), після цього реакційну суміш було охолоджено льодом і  $\text{Vos}_2\text{O}$  (58.34 мл, 0.25 моль) був прикапаний. Реакційна суміш перемішувалась при кімнатній температурі протягом 16 годин. Після цього реакційна суміш була промита насиченим розчином хлориду натрію і водним розчином гідросульфату, посушена за допомогою сульфату натрію і концентрована на роторному упарювачі для отримання сполуки 46 (55 г, 0.19 моль).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform- $d$ )  $\delta$  3.69 (dd,  $J = 8.0, 6.2$  Hz, 2H), 2.37 – 2.19 (m, 2H), 2.00 (ddd,  $J = 13.7, 9.5, 4.4$  Hz, 2H), 1.94 – 1.72 (m, 3H), 1.71 – 1.59 (m, 2H), 1.54 (d,  $J = 1.7$  Hz, 9H).

### **трет-бутил 8,8-дифтор-1-гідрокси-2-азаспіро[4.5]декан-2-карбоксилат**

Сполука 46 (55 г, 0.19 моль) була розчинена у сухому ТГФі (1.1 л) охолоджена до  $-78^{\circ}\text{C}$  і при цій температурі був повільно вкапаний триетилборгідрид літію (120.8 мл, 20% розчин у ТГФ, 0.228 моль), реакційна суміш перемішувалась при  $-78^{\circ}\text{C}$  ще 30 хвилин, потім при цій температурі був прикапаний насичений розчин карбонату натрію (60.4 г, 0.57 моль), температура реакційної суміші була піднята до  $0^{\circ}\text{C}$  і був прикапаний пероксид водню (21.1 мл, 0.87 моль). Реакційна суміш мішалась ще 30 хвилин і була вилита у ЕА, органічний шар був відділений, посушений за допомогою сульфату натрію і концентрована на роторному упарювачі для отримання сполуки 47 (53 г, 0.182 моль).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  5.21 – 4.96 (m, 1H), 3.53 – 3.20 (m, 2H), 1.94 (dq,  $J = 18.7, 10.8$  Hz, 7H), 1.78 – 1.57 (m, 4H), 1.50 (d,  $J = 11.4$  Hz, 12H).

#### **трет-бутил 1-ціано-8,8-дифтор-2-азаспіро[4.5]декан-2-карбоксилат**

Сполука 47 (53 г, 0.182 моль) і TMSCN (56.9 мл, 0.45 моль) були змішані у сухому метилені (800 мл), охолоджені до  $-78^{\circ}\text{C}$  і до реакційної суміші був прикапаний ефірат трифтористого бору (68.85 мл, 0.54 моль), реакційна суміш перемішувалась при  $-78^{\circ}\text{C}$  ще протягом 4 годин, потім при цій температурі був прикапаний насичений розчин карбонату натрію (96.4 г, 0.91 моль), температура була піднята до кімнатної, реакційна суміш була вилита у суміш метилену з водою, органічний шар був відділений, посушений за допомогою сульфату натрію і концентрована на роторному упарювачі для отримання сполуки 48 (46 г, 0.153 моль).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  4.34 (d,  $J = 76.8$  Hz, 1H), 3.68 – 3.30 (m, 2H), 1.96 (dq,  $J = 16.4, 9.2, 8.6$  Hz, 8H), 1.80 – 1.57 (m, 2H), 1.51 (d,  $J = 14.1$  Hz, 9H).

#### **Гідрохлорид 8,8-дифтор-2-азаспіро[4.5]декан-1-карбонової кислоти**

Сполука 48 (46 г, 0.153 моль) була висипана у водний розчин розбавленої соляної кислоти. Реакційна суміш кип'ятилась протягом 16 годин. Потім реакційна суміш була охолоджена, промита МТБЕ і водний шар був концентрована на роторному упарювачі для отримання гідрохлориду сполуки 49 (22 г, 0.086 моль)

### **2-(трет-бутоксикарбоніл)-8,8-дифтор-2-азаспіро[4.5]декан-1-карбонова кислота**

Сполука 49 (22 г, 0.086 моль) була розчинена у системі діоксан/вода (220/110 мл), потім до реакційної суміші був порціонно присипаний карбонат калію (35.7 г, 0.258 моль) і прикапаний  $\text{Woc}_2\text{O}$  (23.7 мл, 0.1 моль). Реакційна суміш перемішувалась при кімнатній температурі протягом 16 годин. Потім реакційна суміш була вилита у воду, промита МТБЕ, водний шар був підкислений гідросульфатом натрію (36.1 г, 0.3 моль), потім водний шар був екстрагований ЕА, органічний шар був посушений за допомогою сульфату натрію і концентрована на роторному упарювачі для отримання сполуки 6 (13 г, 0.04 моль)

$^1\text{H NMR}$  (500 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  4.07 (d,  $J = 73.4$  Hz, 1H), 3.80 – 3.53 (m, 1H), 3.41 (tt,  $J = 11.8, 5.4$  Hz, 1H), 2.19 – 1.56 (m, 6H), 1.43 (dd,  $J = 20.7, 4.5$  Hz, 9H).

## Висновки

- Під час проведення магістерської роботи були отримані нові 3-азаспіро та 3-діазаспіро похідні захищеного L-проліну
- Були оптимізовані схеми синтезу та умови для кожної стадії
- Отримані сполуки можуть слугувати білдинг-блоками під час синтезу нових лікарських засобів
- У подальшому планується синтезувати ще декілька нових білдинг-блоків, з циклопропановим, піперидиновим і тетрагідротіопірановим кільцями.

## Список використаної літератури

1. Chung, J. Y. L., Wasicak, J. T., Arnold, W. A., May, C. S., Nadzan, A. M., & Holladay, M. W. (1990). Conformationally constrained amino acids. Synthesis and optical resolution of 3-substituted proline derivatives. *The Journal of Organic Chemistry*, 55(1), 270-275. doi:10.1021/jo00288a045
2. Cox, D. A., Johnson, A. W., & Mauger, A. B. (1964). 966. A modified proline synthesis. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 5024. doi:10.1039/jr9640005024
3. Shi, G., & Cai, W. (1995).  $\delta$ ,  $\epsilon$ -Unsaturated  $\beta$ ,  $\beta$ -Difluoro- $\alpha$ -keto Esters: Novel Synthesis and Utility as Precursors of  $\beta$ ,  $\beta$ -Difluoro- $\alpha$ -amino Acids. *The Journal of Organic Chemistry*, 60(20), 6289–6295. doi:10.1021/jo00125a013
4. Doebelin, C., He, Y., & Kamenecka, T. M. (2016). Multigram-scale synthesis of enantiopure 3,3-difluoroproline. *Tetrahedron Letters*, 57(50), 5658–5660. doi:10.1016/j.tetlet.2016.11.012
5. Karoyan, P., Quancard, J., Vaissermann, J., & Chassaing, G. (2003). Amino–Zinc–Enolate Carbometalation Reactions: Application to Ring Closure of Terminally Substituted Olefin for the Asymmetric Synthesis of *cis*- and *trans*-3-Prolinoleucine. *The Journal of Organic Chemistry*, 68(6), 2256–2265. doi:10.1021/jo026535n
6. Noguchi, Y., Uchiro, H., Yamada, T., & Kobayashi, S. (2001). Synthetic study of polyoxypeptin: stereoselective synthesis of (2*S*,3*R*)-3-hydroxy-3-methylproline. *Tetrahedron Letters*, 42(31), 5253–5256. doi:10.1016/s0040-4039(01)00867-x
7. Current Patent Assignee: BRISTOL-MYERS SQUIBB CO - WO2014/65791, 2014, A1 Location in patent: Page/Page column 145
8. Davis, F. A., Ramachandar, T., & Liu, H. (2004). Asymmetric Synthesis of  $\alpha$ -Amino 1,3-Dithioketals from Sulfinimines (N-Sulfinyl Imines). *Synthesis*

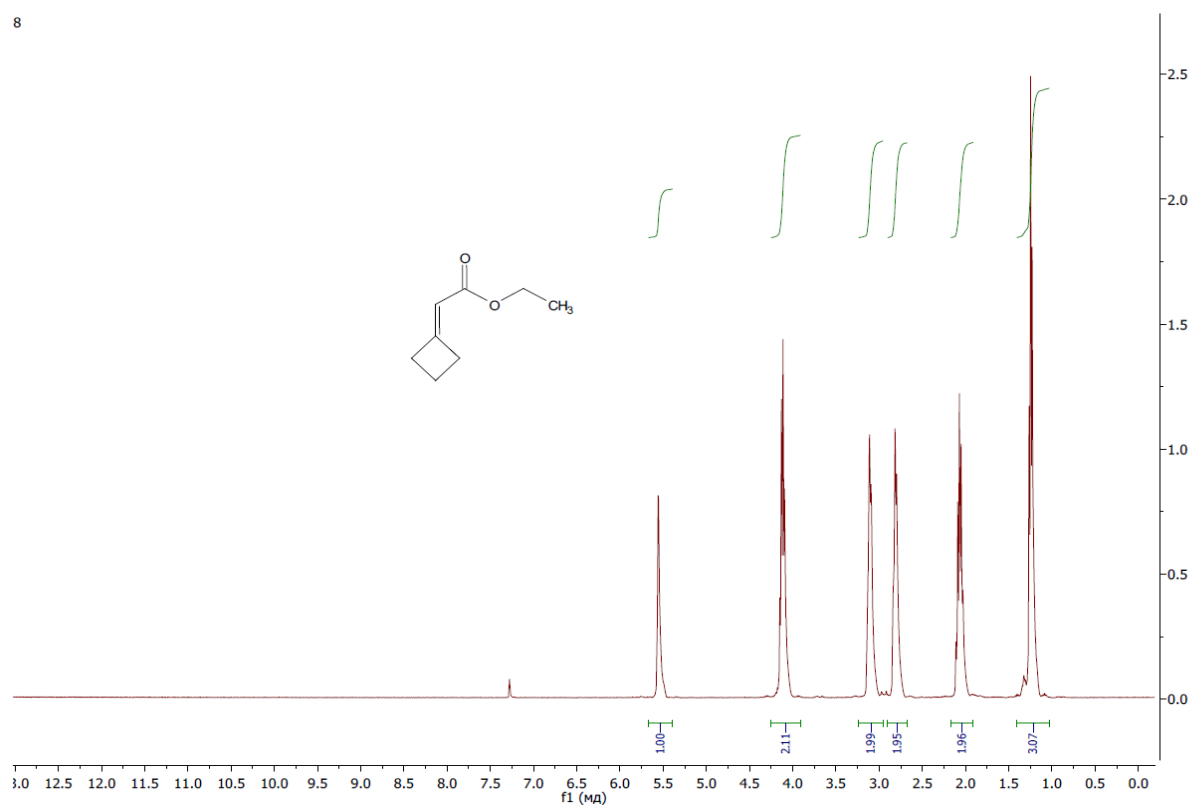
- of (2S,3R)-(-)-3-Hydroxy-3-methylproline. *Organic Letters*, 6(19), 3393–3395. doi:10.1021/ol0485971
9. Dong-Guang Qin, Hui-Yan Zha, and Zhu-Jun Yao\* (2002). Enantioselective Synthesis of (2S,3R)-3-Hydroxy-3-methylproline, A Novel Amino Acid Found in Polyoxypeptins. *Journal of Organic Chemistry*, 2002, vol. 67, # 3, p. 1038 – 1040 <https://doi.org/10.1021/jo016227+>
  10. Dieter, R. K., & Li, S. (1997). Copper Cyanide-Catalyzed Palladium Coupling of N-tert-Butoxycarbonyl-Protected  $\alpha$ -Lithio Amines with Aryl Iodides or Vinyl Iodides. *The Journal of Organic Chemistry*, 62(22), 7726–7735. doi:10.1021/jo970985b
  11. Peixoto, S., Nguyen, T. M., Crich, D., Delpech, B., & Marazano, C. (2010). One-Pot Formation of Piperidine- and Pyrrolidine-Substituted Pyridinium Salts via Addition of 5-Alkylaminopenta-2,4-dienals to N-Acyliminium Ions: Application to the Synthesis of ( $\pm$ )-Nicotine and Analogs. *Organic Letters*, 12(21), 4760–4763. doi:10.1021/ol101783c
  12. Rassa, G., Pinna, L., Spanu, P., Ulgheri, F., & Casiraghi, G. (1994). Total syntheses of N-boc-protected 3'-deoxy-4'-azathymidine and 4'-azauridine. *Tetrahedron Letters*, 35(23), 4019–4022. doi:10.1016/s0040-4039(00)76729-3
  13. Current Patent Assignee: XIAMEN BIOTIME BIOTECHNOLOGY - EP3744718, 2020, A1 Location in patent: Paragraph 0127-0128
  14. Hanessian, S., Bayrakdarian, M., & Luo, X. (2002). Total Synthesis of A-315675: A Potent Inhibitor of Influenza Neuraminidase. *Journal of the American Chemical Society*, 124(17), 4716–4721. doi:10.1021/ja0126226
  15. Lehninger Principles of Biochemistry 5th Edition by David L. Nelson, Michael M. Cox
  16. Berg, J.M., Tymoczko, J.L., Gatto, G.J. "Biochemistry"
  17. Hughes, A.B. "Amino Acids, Peptides and Proteins in Organic Chemistry"

18. Henzi V, Reichling DB, Helm SW, MacDermott AB (April 1992). "L-proline activates glutamate and glycine receptors in cultured rat dorsal horn neurons". *Molecular Pharmacology*. 41 (4): 793–801. PMID 1349155
19. Mayneris-Perxachs J, Castells-Nobau A, Arnoriaga-Rodríguez M, Martín M, de la Vega-Correa L, Zapata C, et al. (May 2022). "Microbiota alterations in proline metabolism impact depression". *Cell Metabolism*. 34 (5): 681–701.e10. doi:10.1016/j.cmet.2022.04.001
20. Szpak P (2011). "Fish bone chemistry and ultrastructure: implications for taphonomy and stable isotope analysis". *Journal of Archaeological Science*. 38 (12): 3358–3372. doi:10.1016/j.jas.2011.07.022
21. Kollonitsh, J.; Perkins, L. M.; Patchett, A. A.; Doldouras, G. A.; Marburg, S.; Duggan, D. E.; Maycock, A. L.; Aster, S. D. *Nature* 1978,274,906
22. Kukhar V. P., *J. Fluorine Chem.* 1994, 69, 199

## ДОДАТОК А

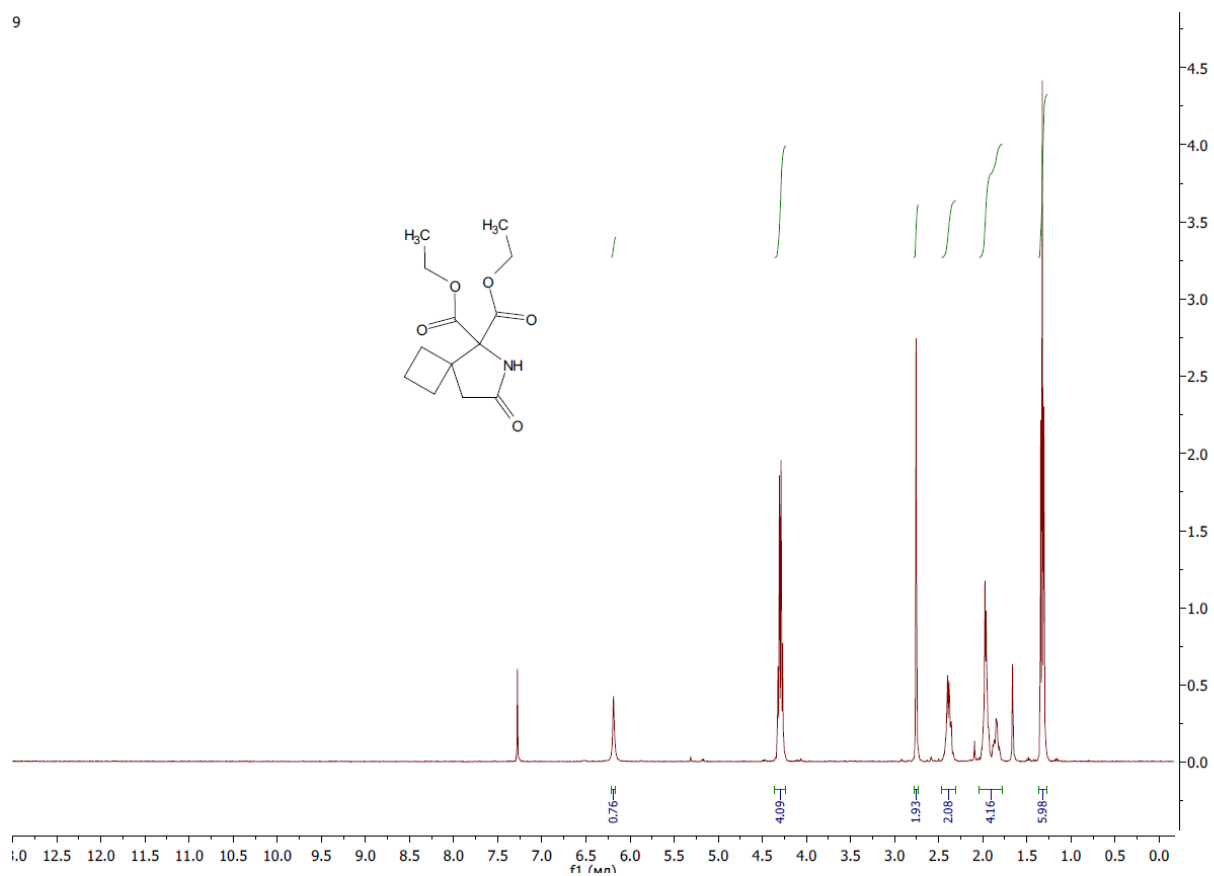
A8

8



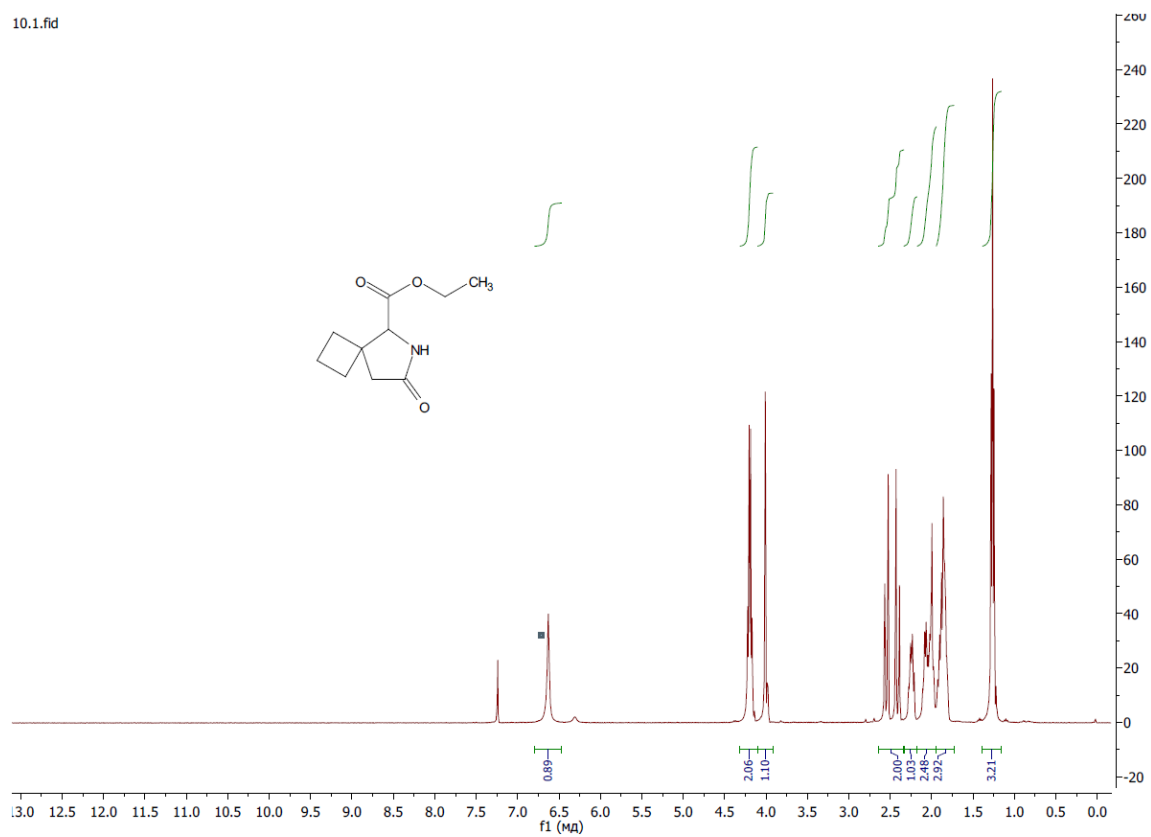
A9

9



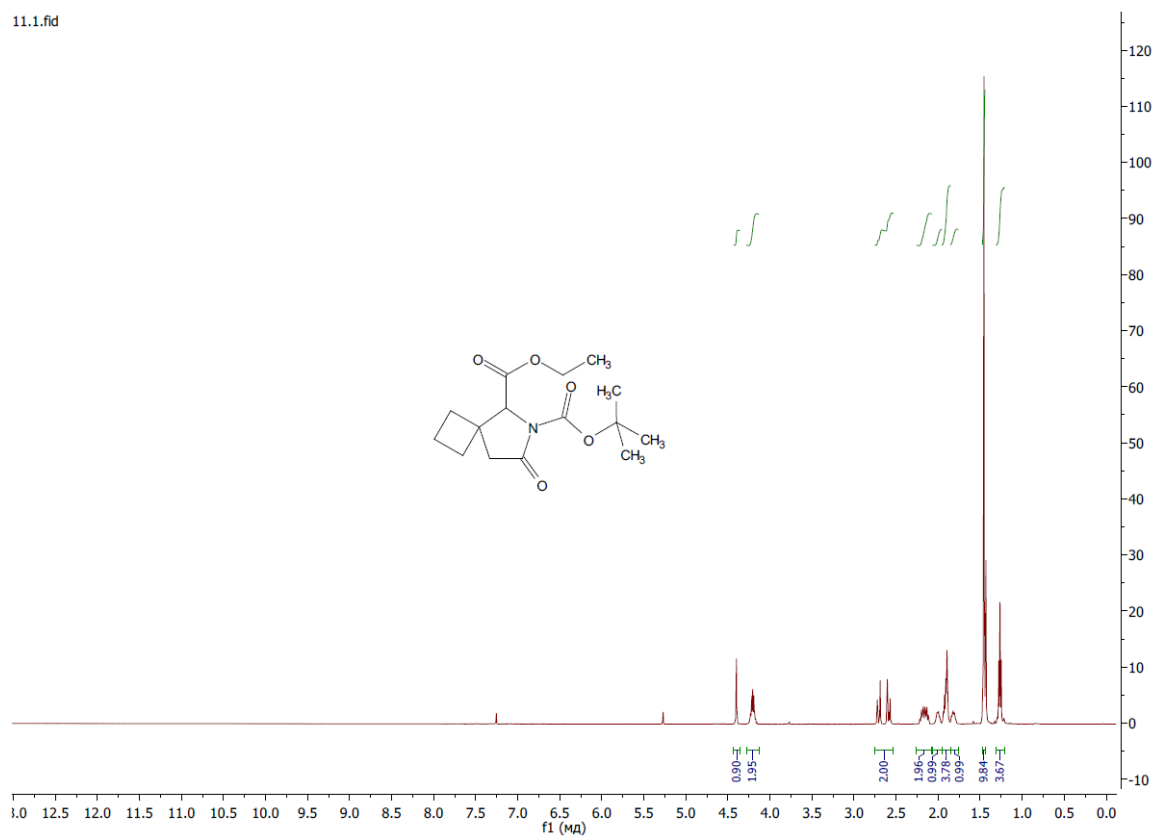
## A10

10.1.fid



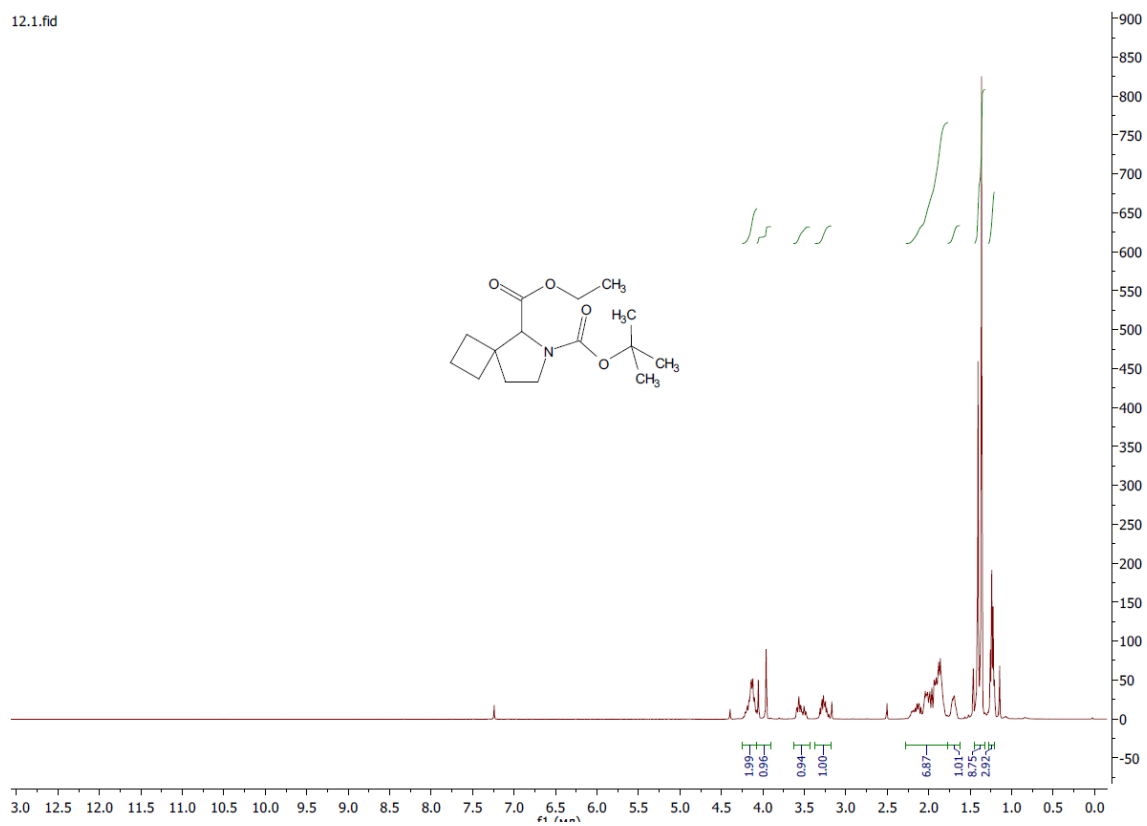
## A11

11.1.fid



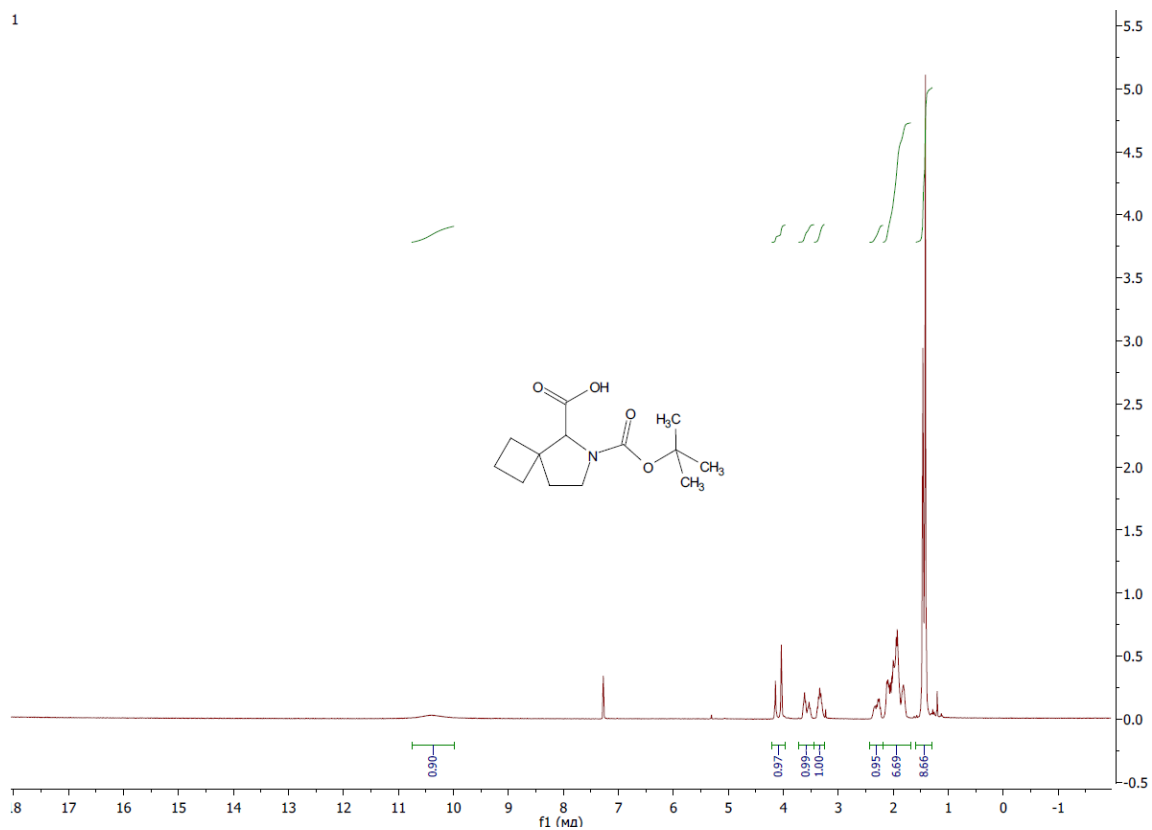
## A12

12.1.fid



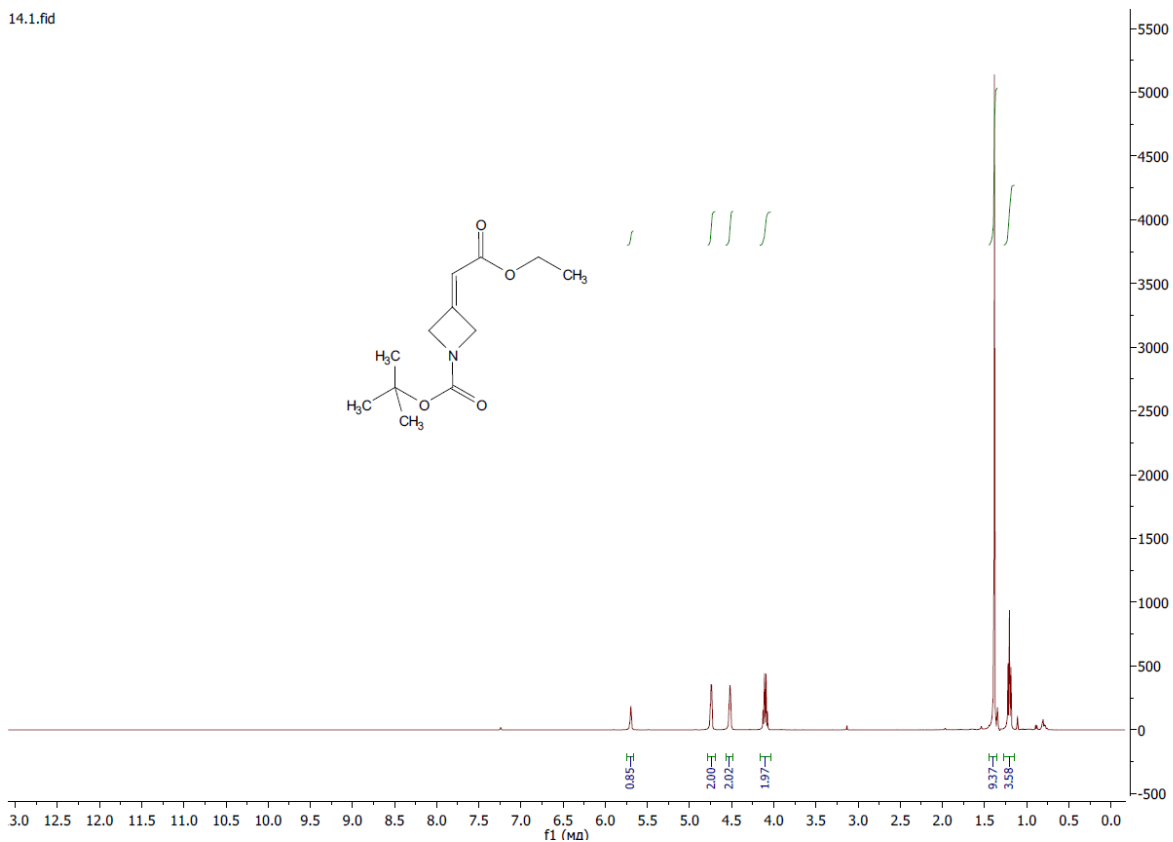
## A1

1



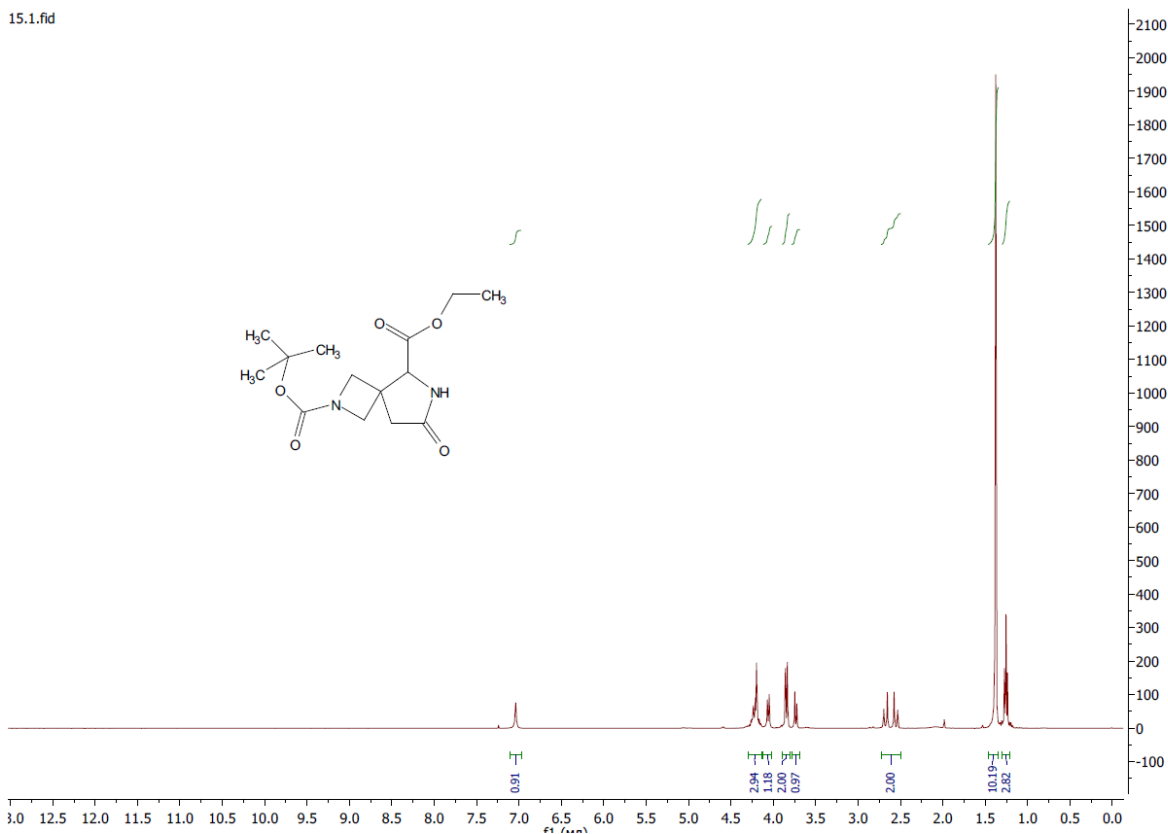
## A14

14.1.fid



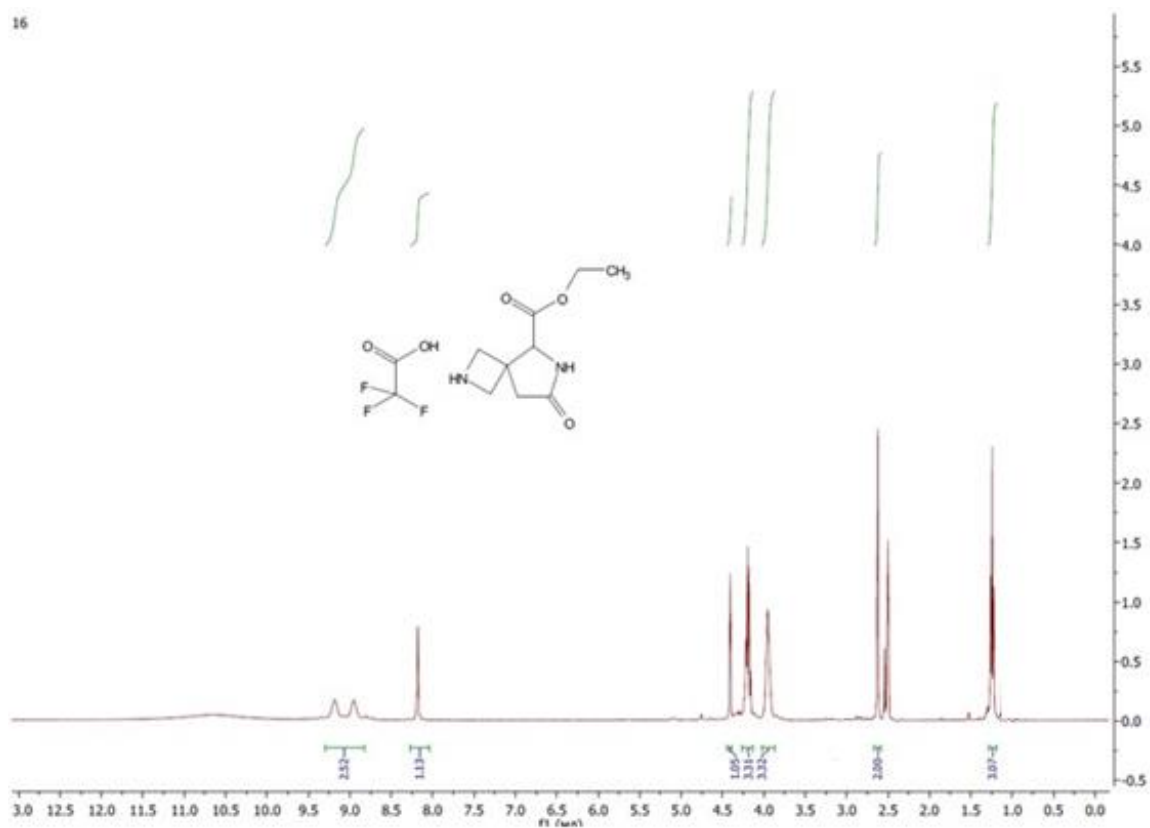
## A15

15.1.fid



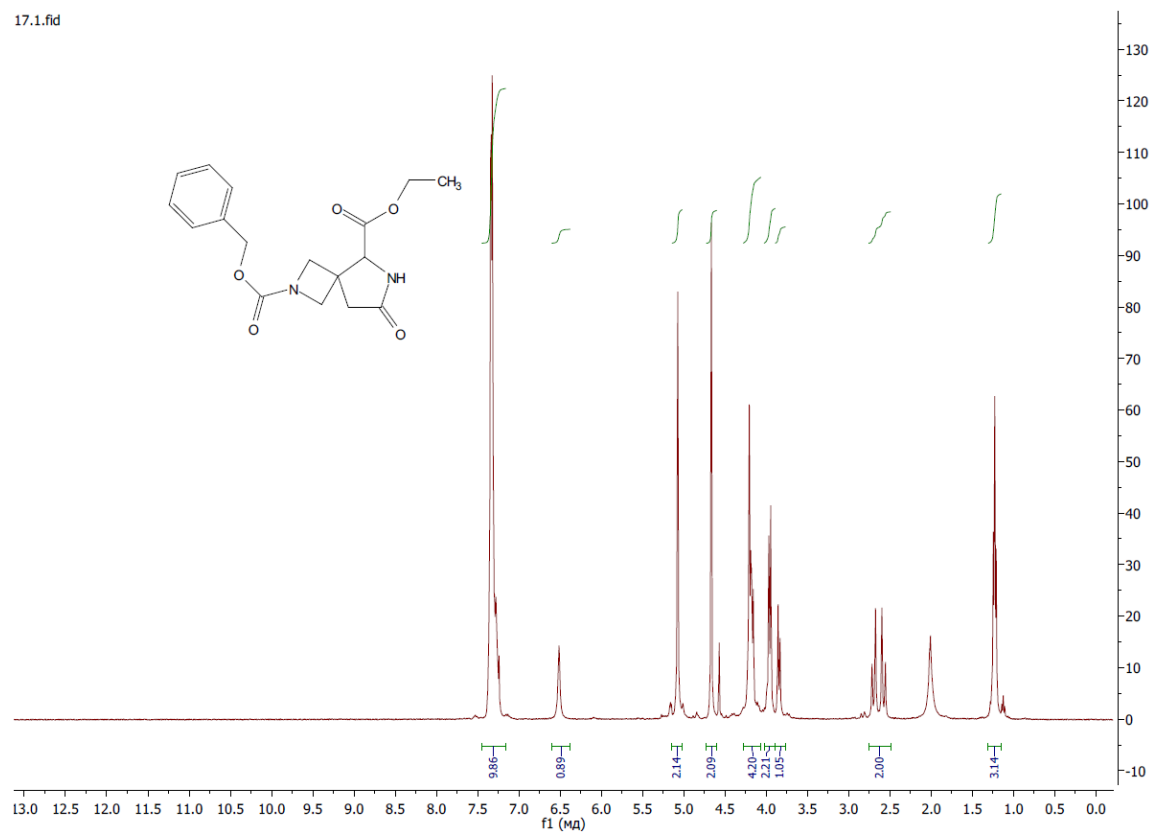
## A16

16



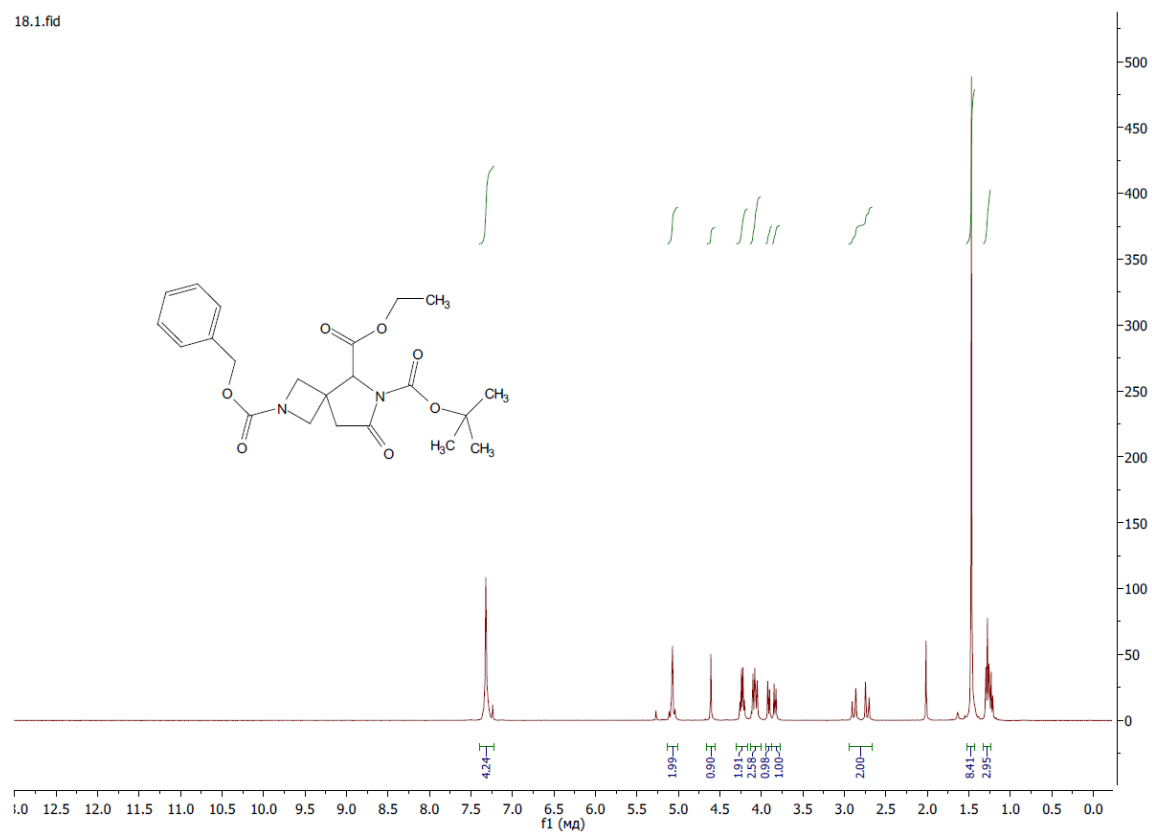
## A17

17.1.fid



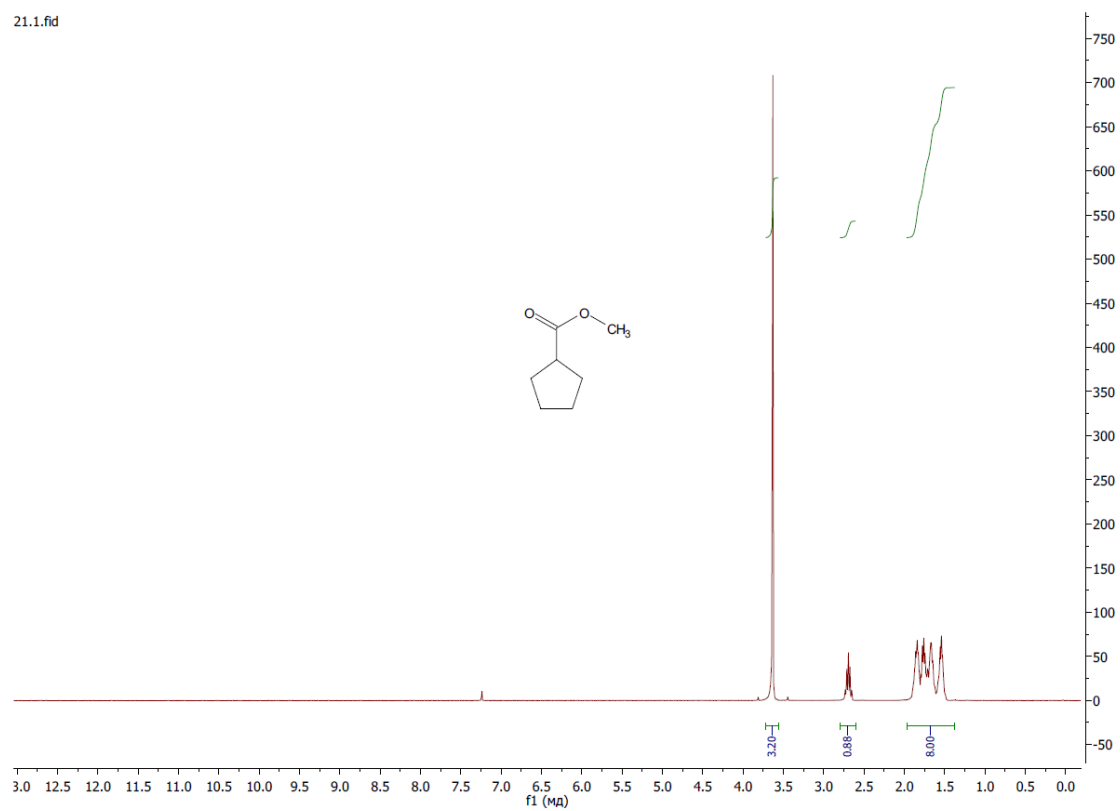
## A18

18.1.fid



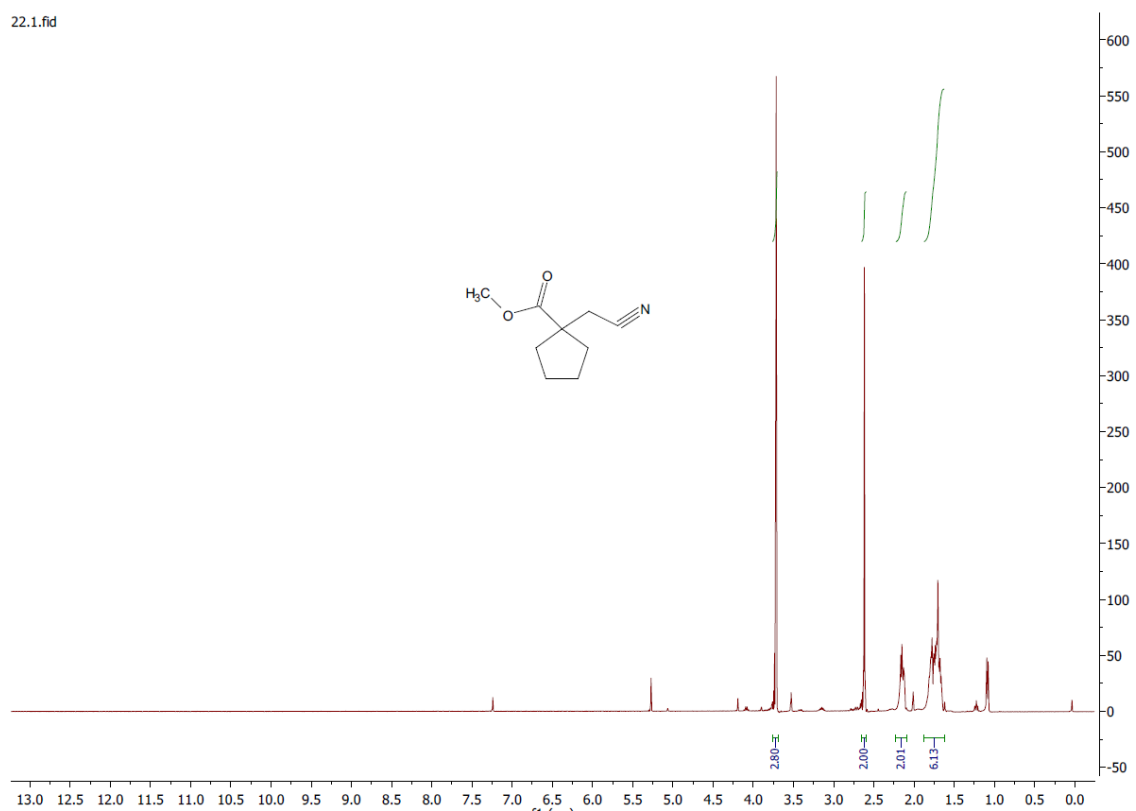
## A21

21.1.fid



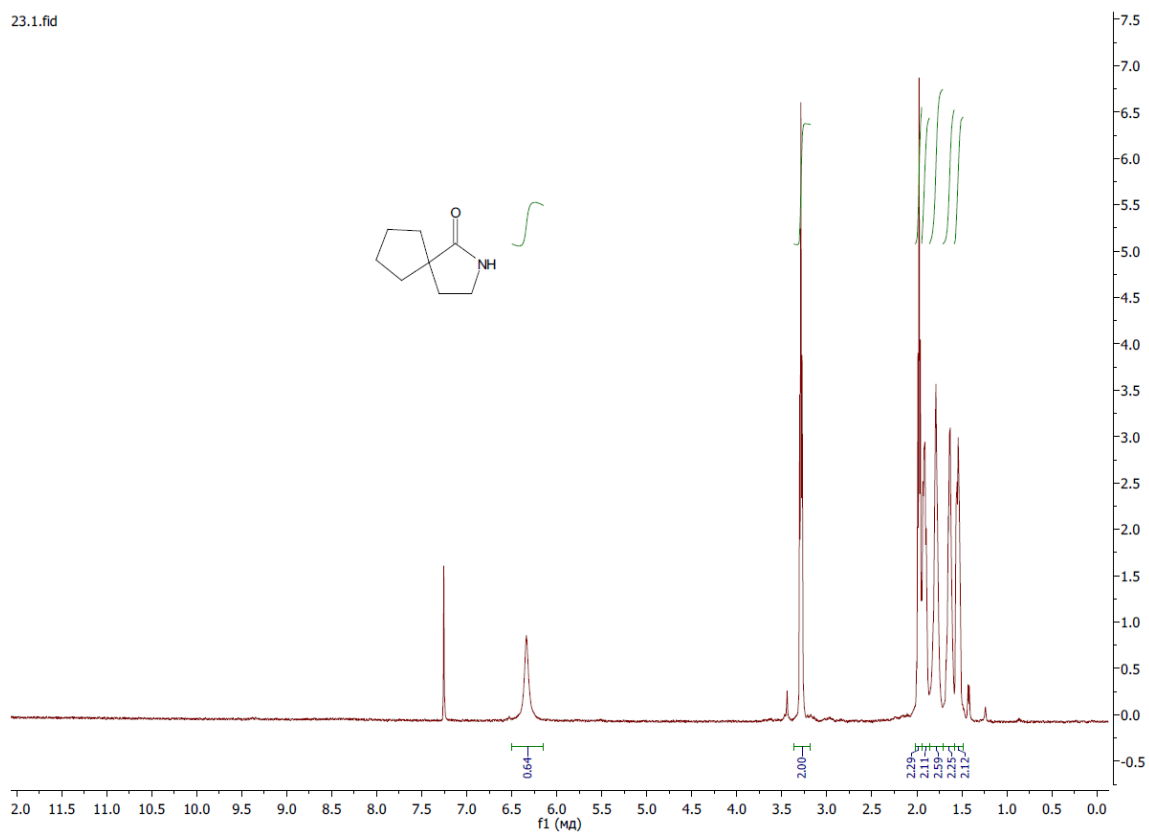
## A22

22.1.fid



## A23

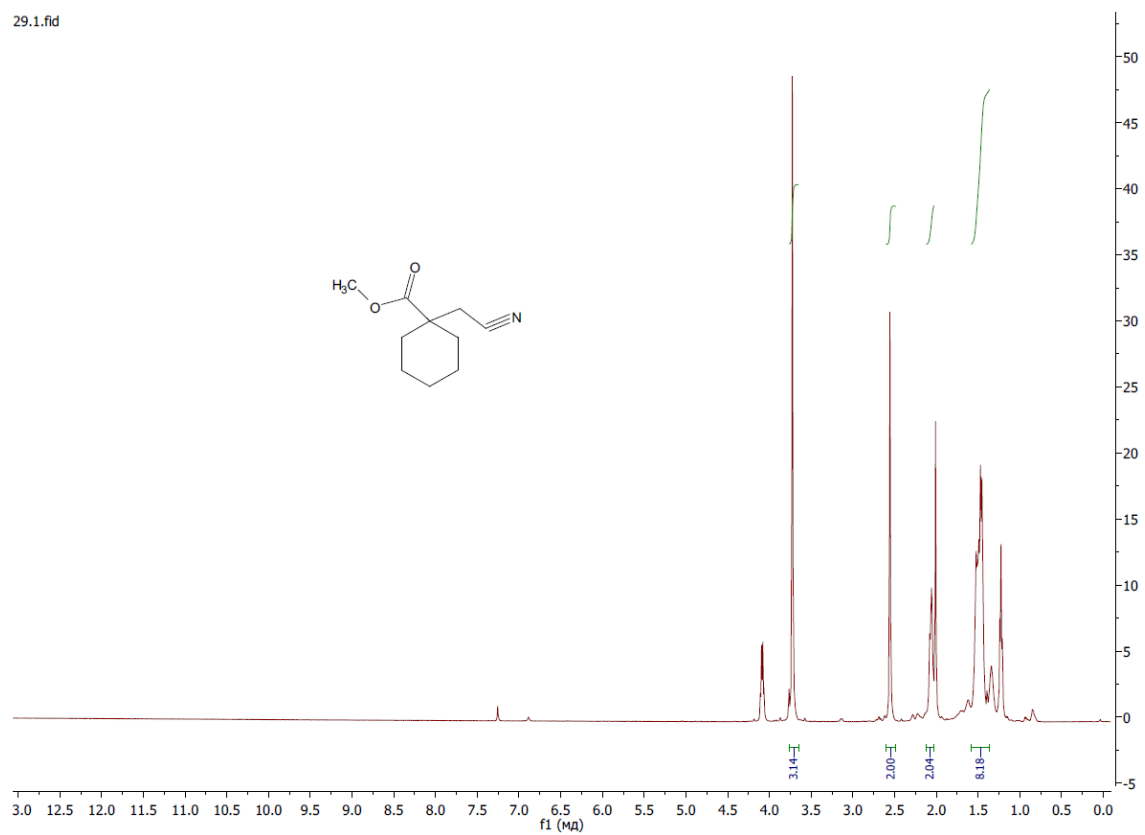
23.1.fid





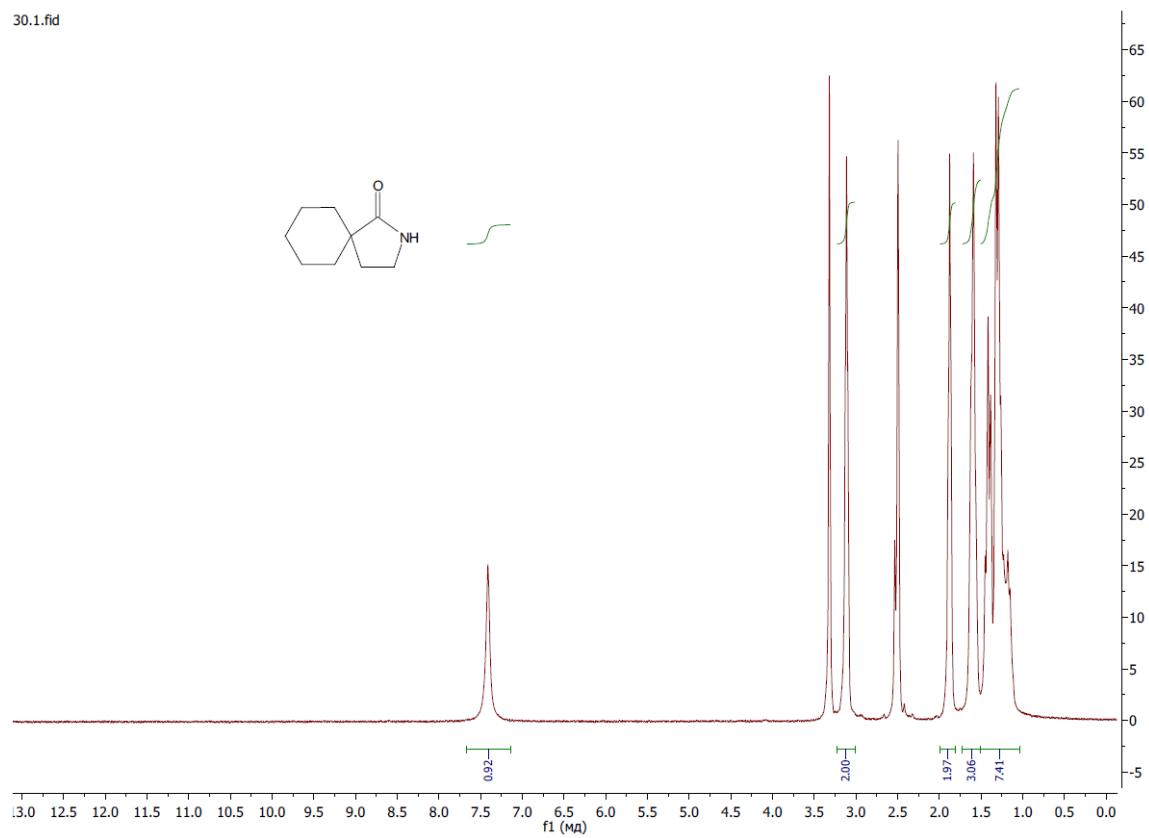
A29

29.1.fid



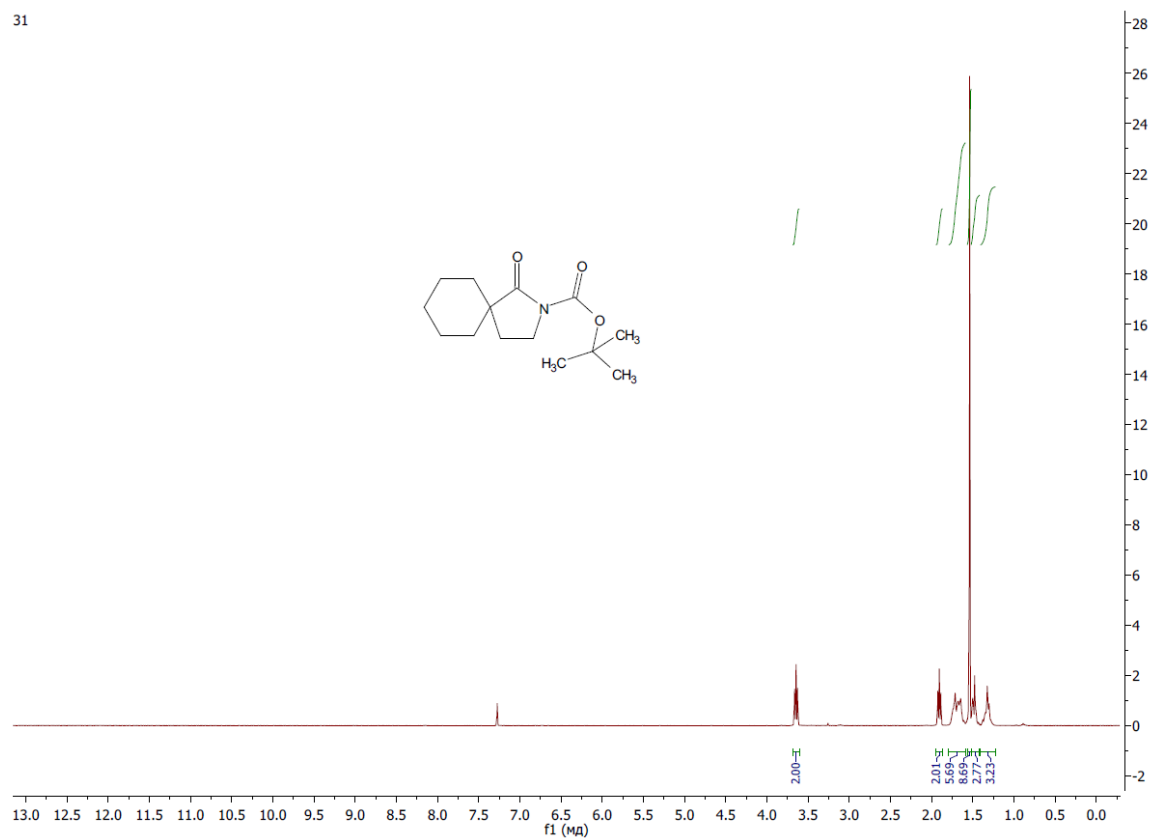
A30

30.1.fid



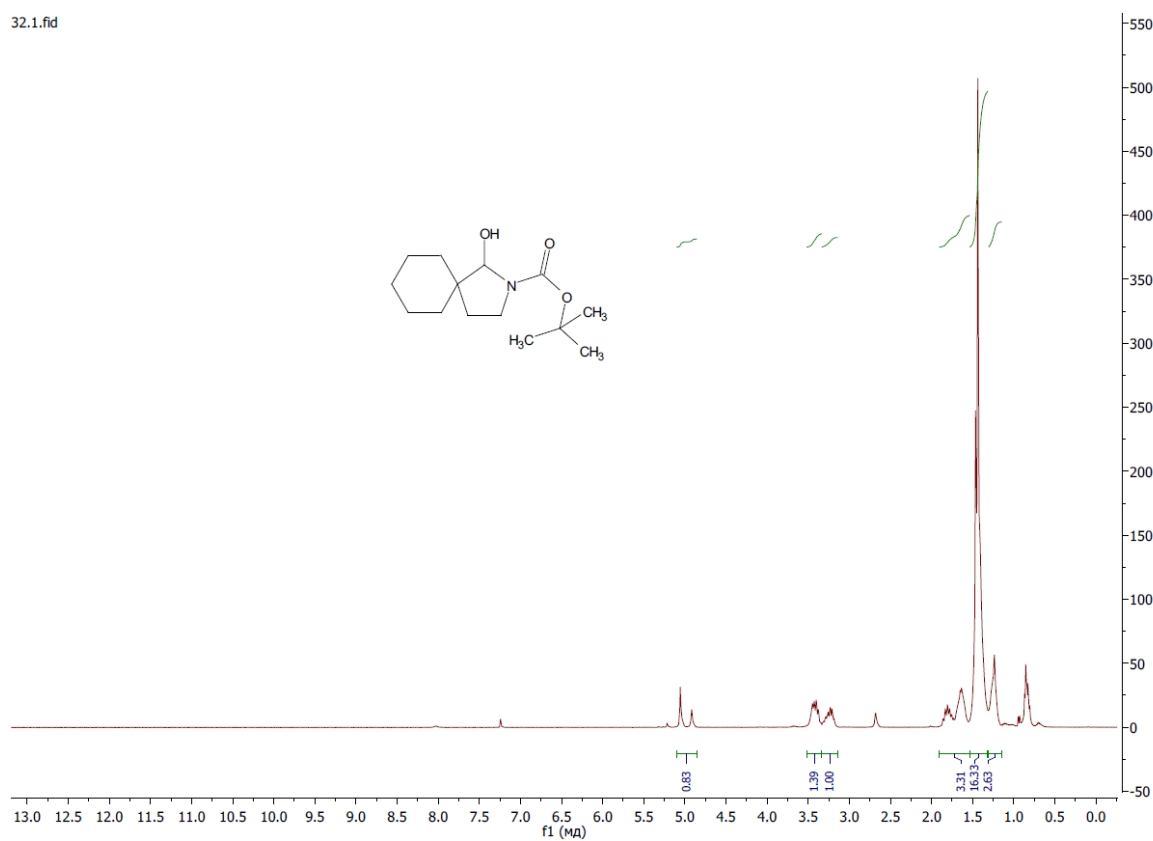
## A31

31



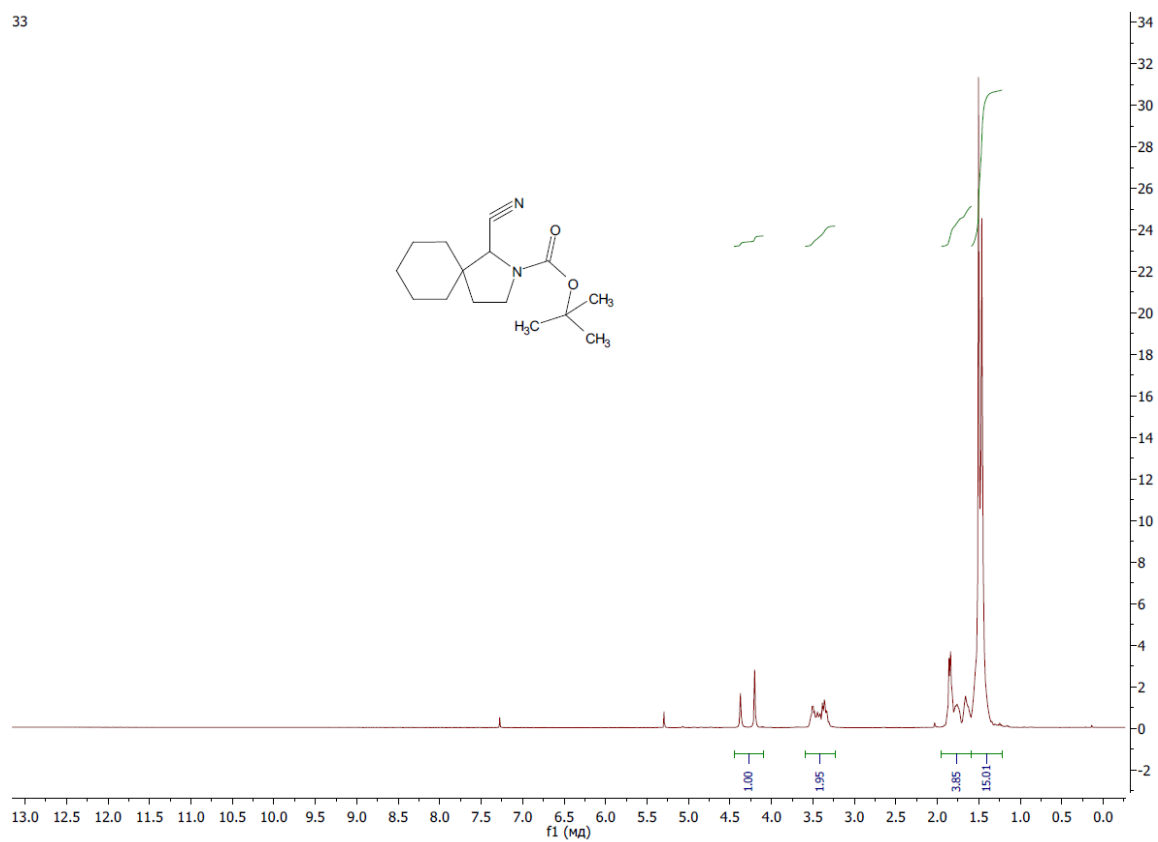
## A32

32.1.fid



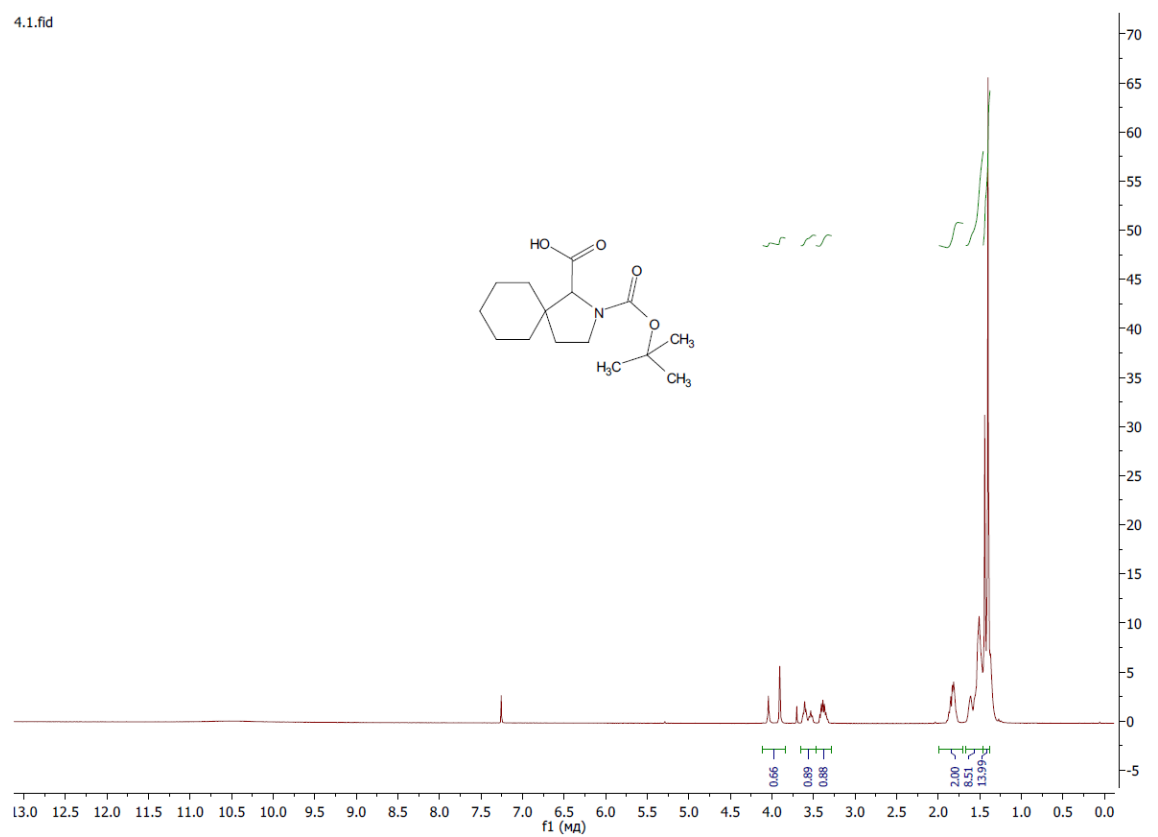
## A33

33



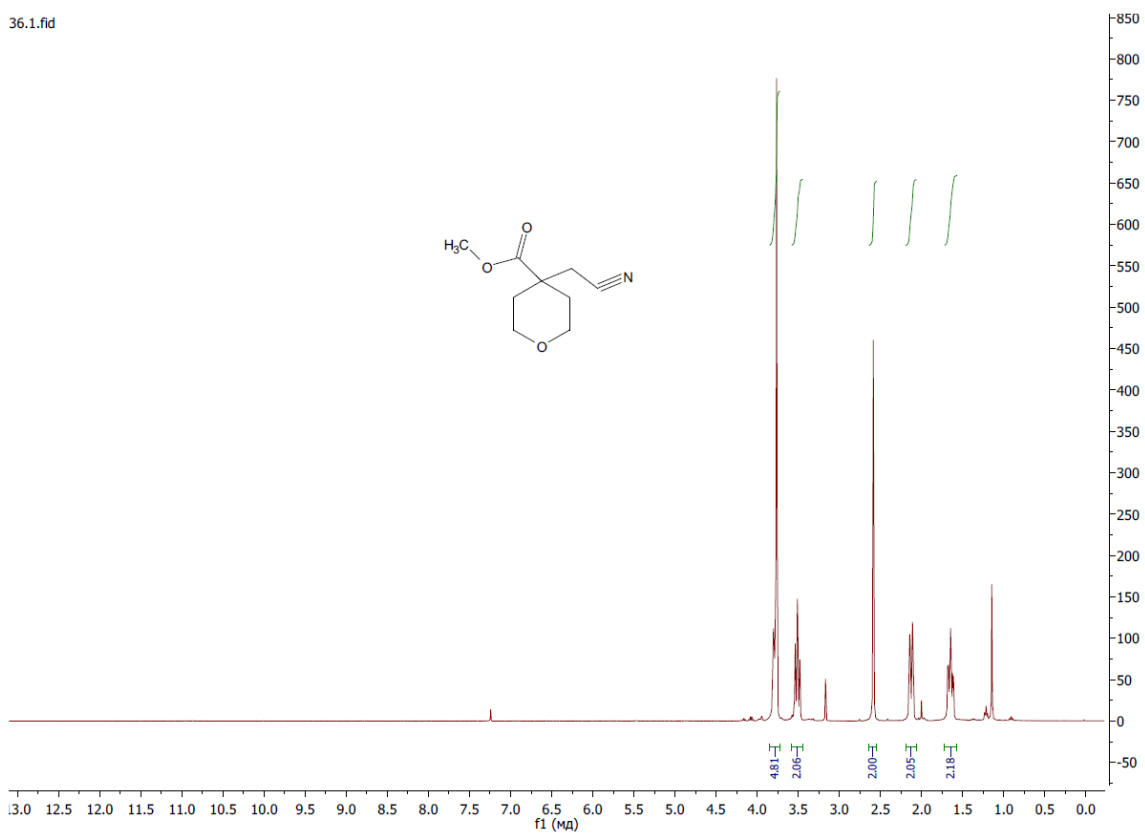
## A4

4.1.fid



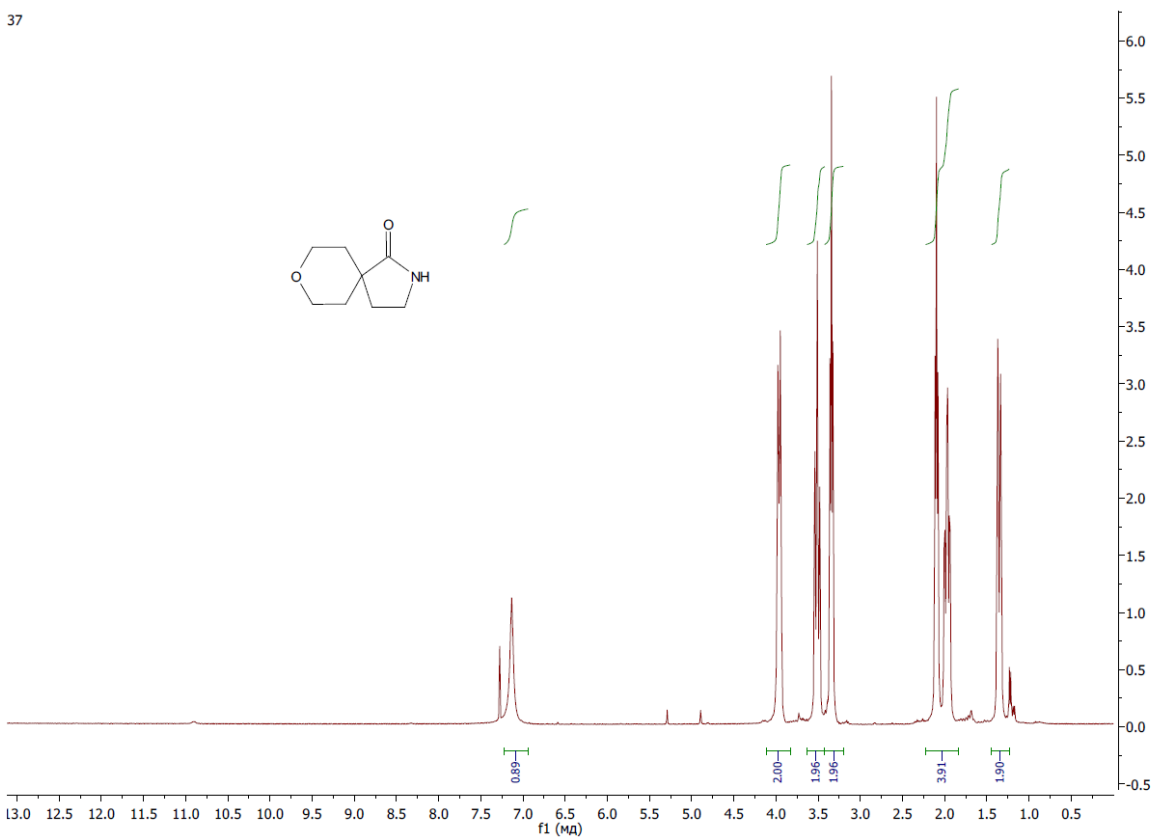
## A36

36.1.fid



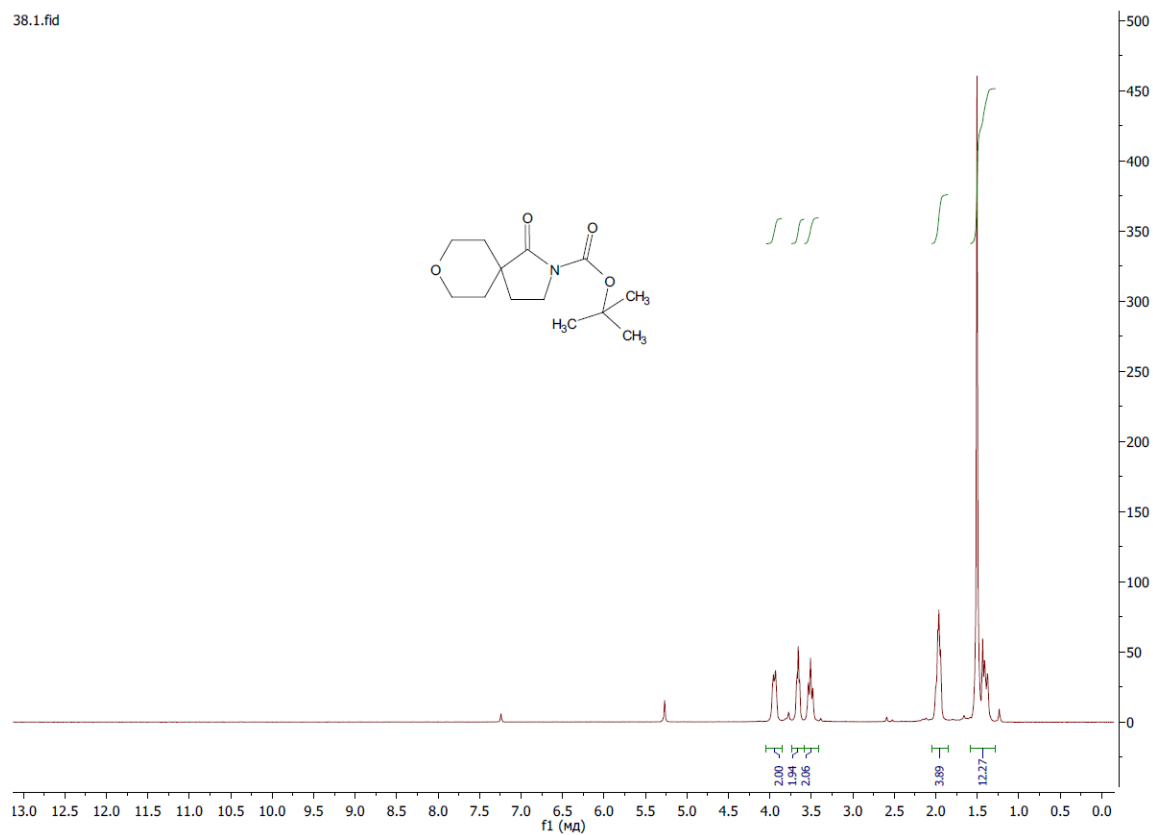
## A37

37



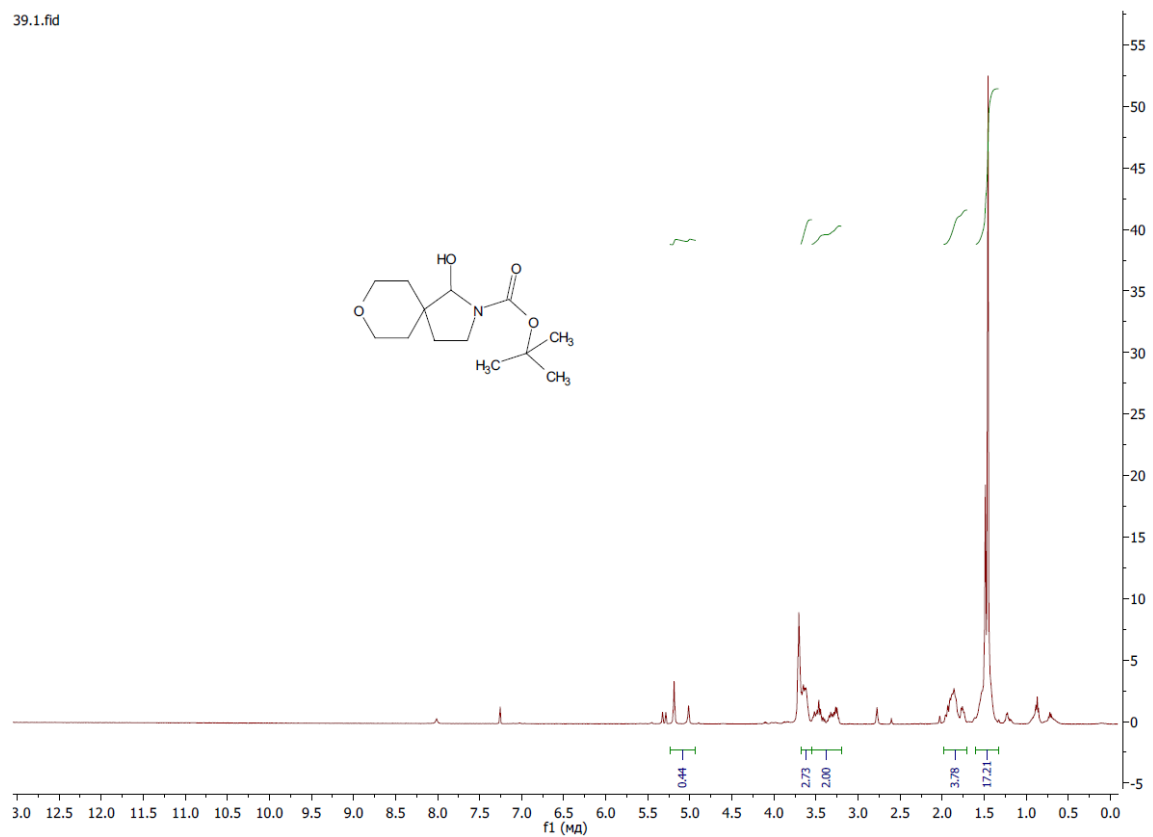
## A38

38.1.fid



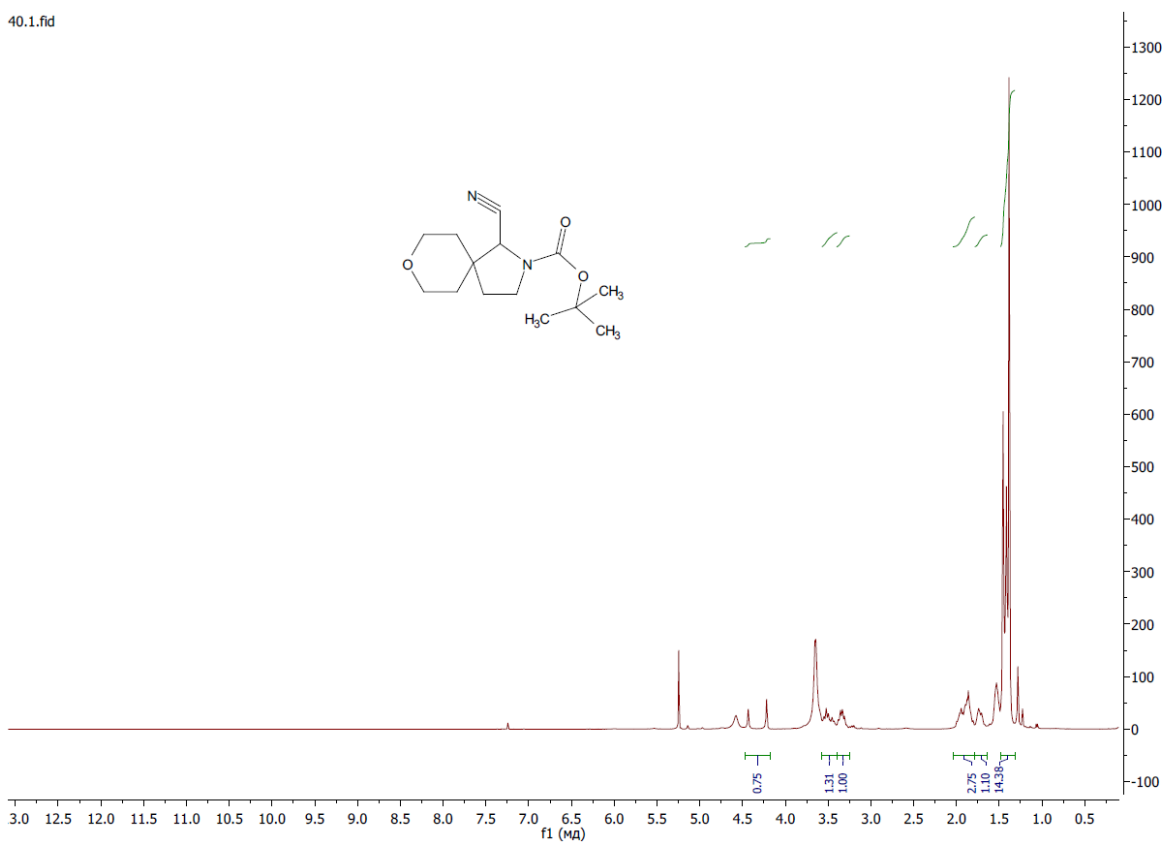
## A39

39.1.fid



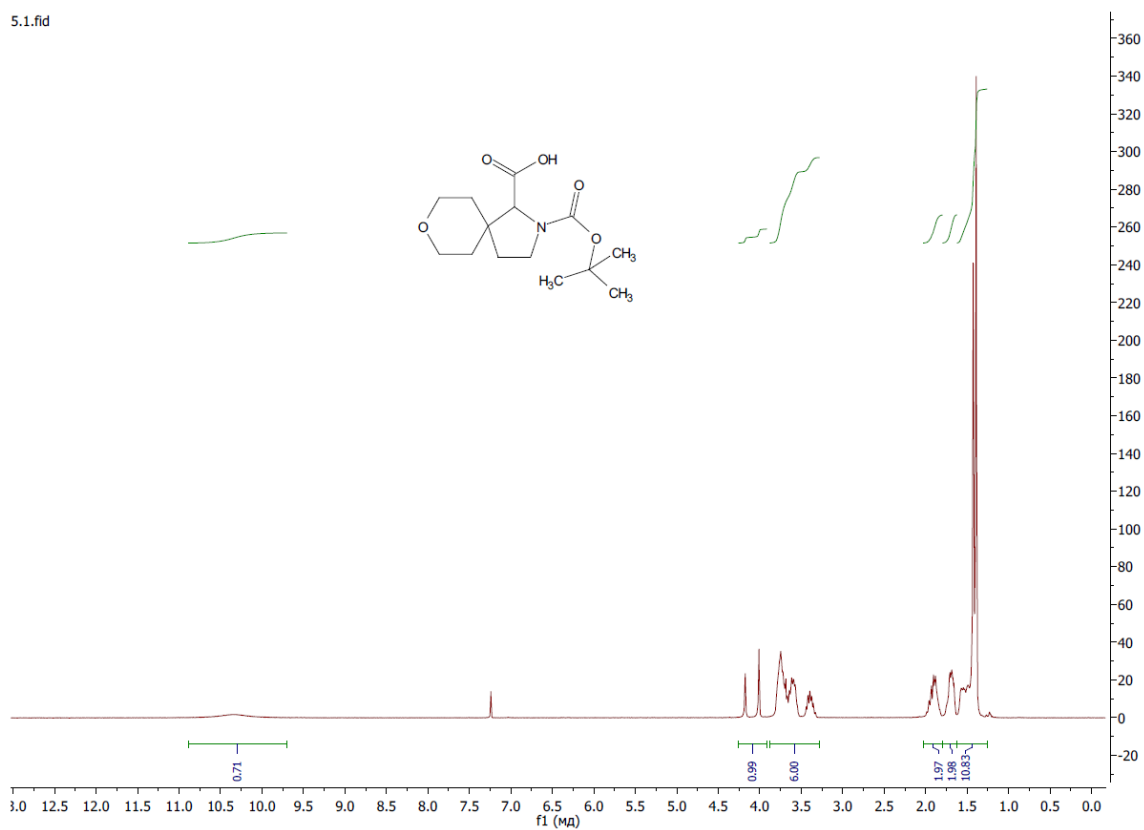
A40

40.1.fid



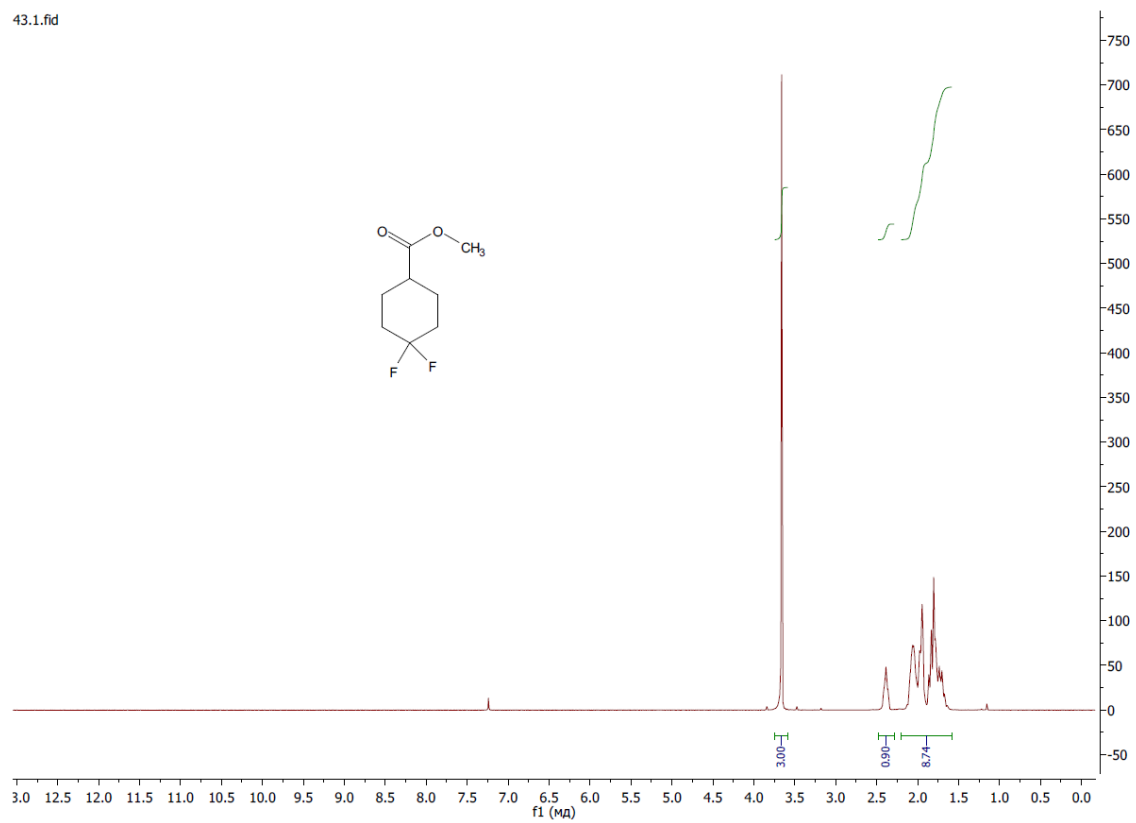
A5

5.1.fid



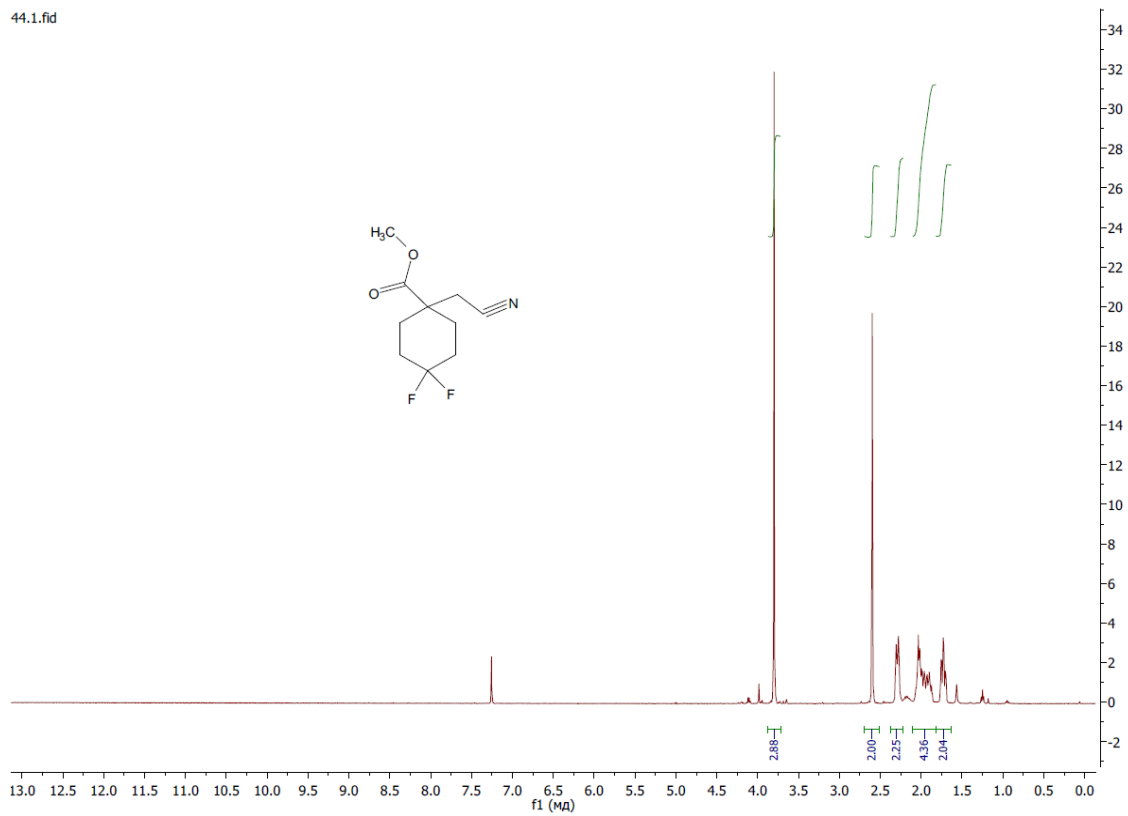
## A43

43.1.fid



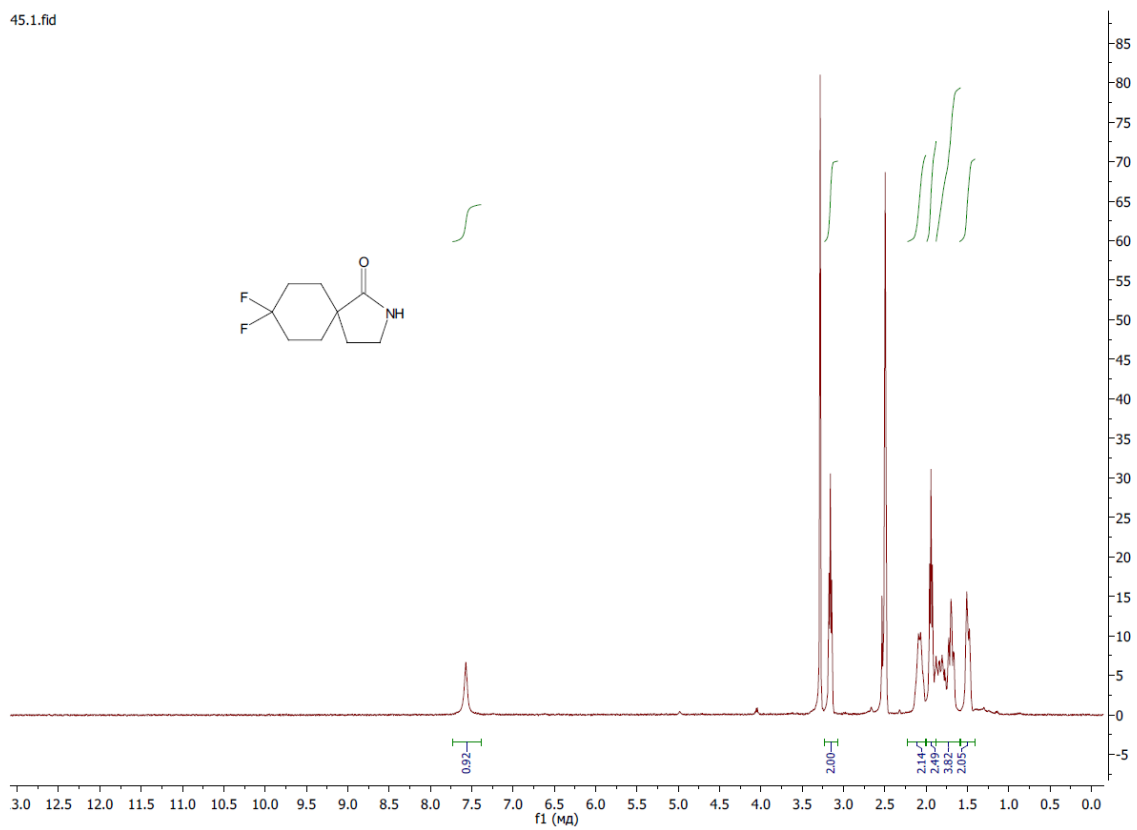
## A44

44.1.fid



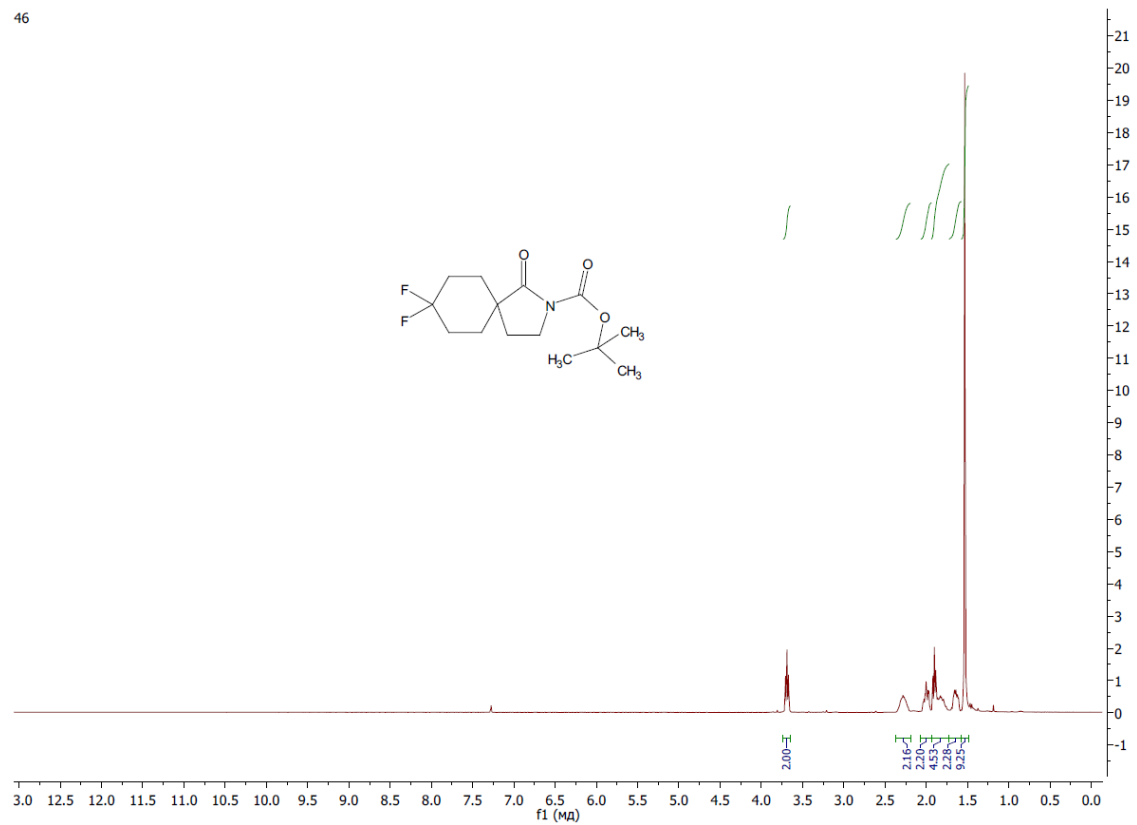
## A45

45.1.fid



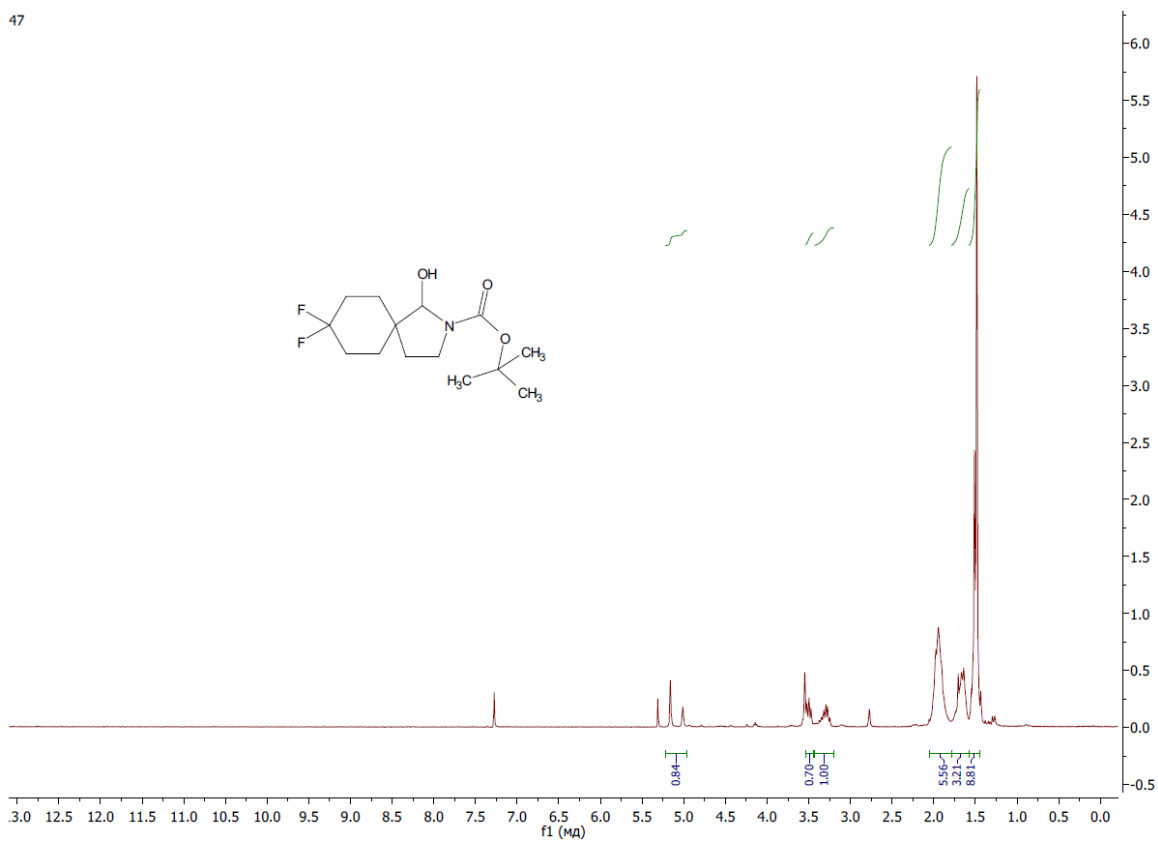
## A46

46



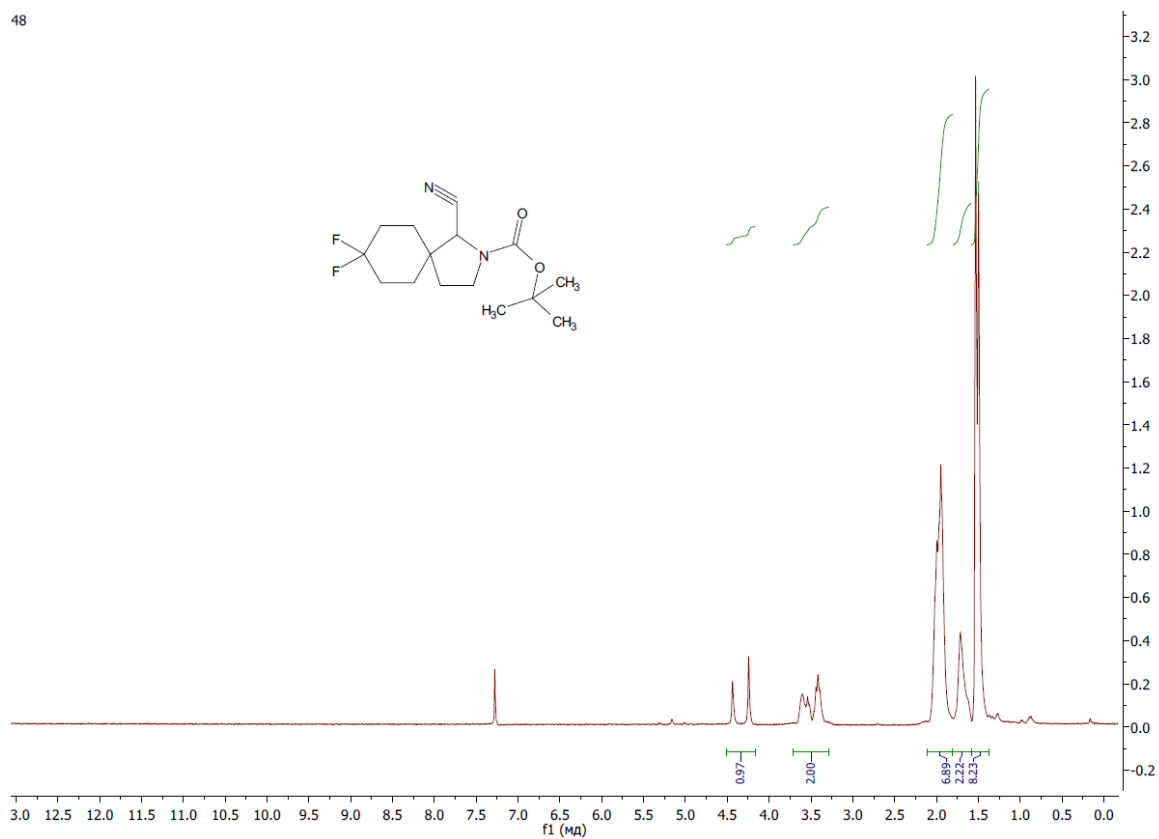
## A47

47



## A48

48



A6

6.1.fid

