

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201991767 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2019.12.30

(22) Дата подачи заявки
2012.11.08

(51) Int. Cl. C07D 473/34 (2006.01)
A61K 31/522 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)
C07D 519/00 (2006.01)

(54) ПРОИЗВОДНЫЕ ПУРИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

(31) 11188511.7

(32) 2011.11.09

(33) EP

(62) 201490947; 2012.11.08

(71) Заявитель:
ЯНССЕН САЙЕНСИЗ АЙРЛЭНД
ЮСИ (IE)

(72) Изобретатель:
Бонфанти Жан-Франсуа, Дубле
Фредерик Марк Морис (FR),
Эмбрехтс Вернер (BE), Фортэн Жером
Мишель Клод (FR), Мак Гоуэн Дэвид
Крейг (BE), Мюллер Филипп (FR),
Рабуассон Пьер Жан-Мари Бернар
(BE)

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

(57) Настоящее изобретение относится к производным пурина, способам их получения, фармацевтическим композициям и их применению при лечении вирусных инфекций.

A1

201991767

201991767

A1

ПРОИЗВОДНЫЕ ПУРИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Настоящее изобретение относится к производным пурина, способам их получения, фармацевтическим композициям и их применению при лечении вирусных инфекций.

Настоящее изобретение относится к применению производных пурина при лечении вирусных инфекций, иммунологических или воспалительных нарушений, в которые вовлечены модуляция или агонизм толл-подобных рецепторов (TLR). Толл-подобные рецепторы представляют собой первичные трансмембранные белки, характеризующиеся внеклеточным лейцин-богатым доменом и цитоплазматическим расширением, которые содержат консервативную область. Врожденная иммунная система может распознавать патоген-ассоциированные молекулярные паттерны посредством данных TLR, экспрессируемых на клеточной поверхности определенных типов иммунных клеток. При распознавании чужеродных патогенов активируется образование цитокинов и повышение уровня регуляции ко-стимулирующих молекул на фагоцитах. Это приводит к модуляции поведения Т-клеток.

Установлено, что большинство видов млекопитающих имеют от десяти до пятнадцати типов толл-подобных рецепторов. В общей сложности у человека и мышей выявили тринадцать TLR (под названием TLR1-TLR13), а у других видов млекопитающих обнаружили эквивалентные формы многих из них. Тем не менее, эквиваленты определенных TLR, обнаруженных у человека, не присутствуют у всех млекопитающих. Например, ген, кодирующий белок, аналогичный TLR10 у людей, присутствует у мышей, но, по-видимому, в определенный момент в прошлом он был поврежден ретровирусом. С другой стороны, у мышей экспрессируются TLR 11, 12 и 13, ни один из которых не представлен у человека. У других млекопитающих могут экспрессироваться TLR, которые не обнаружены у человека. Другие виды, не являющиеся млекопитающими, могут иметь TLR, отличные от таковых у млекопитающих, доказательством этому служит TLR14, который обнаружен у рыбы фугу. Это может осложнить способ применения подопытных животных в качестве моделей врожденного иммунитета

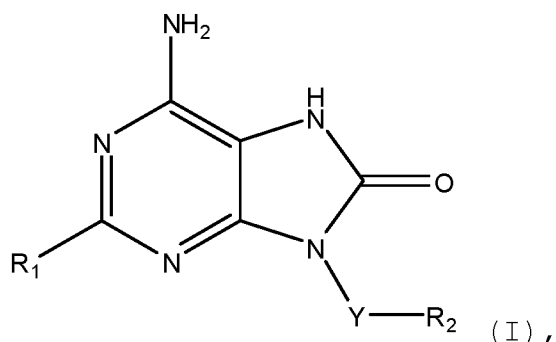
человека.

Обзор по толл-подобным рецепторам смотрите, например, в следующей статье в журнале: Hoffmann, J.A., Nature, 426, p33-38, 2003.

Ранее были описаны соединения, проявляющие активность в отношении толл-подобных рецепторов, такие как производные пурина в WO 2006/117670, производные аденина в WO 98/01448 и WO 99/28321 и пиримидины в WO 2009/067081.

Тем не менее, существует острая необходимость в новых модуляторах толл-подобных рецепторов, характеризующихся предпочтительной избирательностью, более высокой активностью, более высокой стабильностью к инактивации в процессе метаболизма и улучшенным профилем безопасности по сравнению с соединениями известного уровня техники.

В соответствии с настоящим изобретением предусматриваются соединения формулы (I),



или их фармацевтически приемлемая соль, сольват или полиморф, где

Y представляет собой (C₁₋₄) алкилен,

R₁ представляет собой гетероарил¹, и

R₂ представляет собой арил² или гетероцикл.

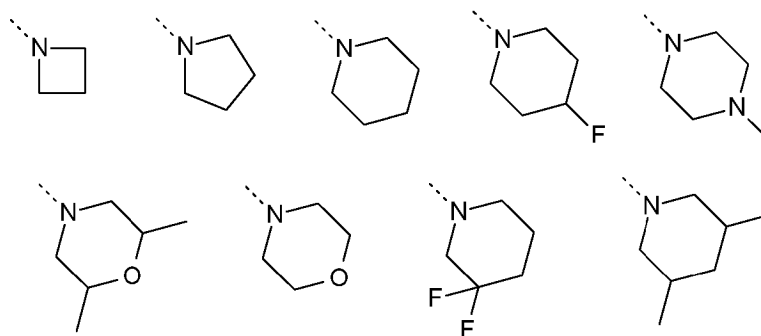
Выражение гетероарил¹ означает имидазолил, пиридил, пиримидил, пирролил, пирозолил, фурил, оксазолил, оксадиазолил, изоксазолил, пиазинил или тиазолил. Гетероарил¹ необязательно замещен одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из гидроксила, C₁₋₆алкила, C₁₋₄алкокси, трифторметила, C₃₋₆циклоалкила, фенила, галогена, гидроксил-C₁₋₄алкила, C₁₋₄алкокси-, C₁₋₄алкила- или C₁₋₄алкил-диэтоксифосфора.

Выражение арил² включает фенил, нафтил, антраценил и

фенантренил, и более предпочтительно фенил. Арил² необязательно замещен одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из гидроксила, C₁₋₆алкила, C₁₋₄алкокси, трифторметила, CO₂R₃, R₄R₅N-C₁₋₄алкила-, галогена, гидроксила- C₁₋₄алкила-, NR₆R₇, C(O)R₆, C(O)NR₆R₇, C₁₋₄алкил-диэтоксифосфора или C₁₋₄алкил-фосфоновой кислоты.

R₃ выбран из H и C₁₋₆алкила.

R₄ и R₅, взятые вместе с азотом, к которому они оба присоединены, образуют гетероцикл, выбранный из группы, состоящей из:



R₆ и R₇, каждый независимо выбран из H, C₁₋₆алкила или C₁₋₄алкокси.

Выражение "гетероциклил" относится к тетрагидрофурану и гетероарилу².

Выражение гетероарил² включает пиридил, тетрагидроизохинолинил, имидазопиридилил, хинолинил, изохинолинил, пиазинил, пиримидил, нафтиридилил, пиридазинил, бензимидазолил, бензотиазолил, пиазолил, тиазолил, имидазолил, индазолил. Гетероарил² необязательно замещен одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из галогена, гидроксила, C₁₋₆алкила, C₁₋₄алкокси, окси-C₁₋₄алкиламина или пирролидинил-метанона.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение охватывает соединение формулы (I), где R₁ выбран из группы, включающей имидазолил, пиазолил или пиридилил, каждый из которых необязательно замещен одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из галогена, гидроксила, C₁₋₆алкила, C₁₋₄алкокси или C₃₋₆циклоалкила.

Предпочтительными соединениями в соответствии с настоящим

изобретением являются соединения, перечисленные в таблице 1 и 2, соответственно, и обозначенные следующими номерами: 1, 4, 9, 23, 24, 25, 26, 35, 36, 48, 49, 50, 51 и 54.

Кроме того, к настоящему изобретению относится фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или полиморф вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями, разбавителями или носителями.

Частью настоящего изобретения также является соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или полиморф, или вышеупомянутая фармацевтическая композиция для применения в качестве лекарственного препарата.

Настоящее изобретение также относится к соединению формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, сольвату или полиморфу, или вышеуказанной фармацевтической композиции для применения при лечении нарушения, в которое вовлечена модуляция TLR7.

Выражение "алкил" относится к насыщенному алифатическому углеводороду с неразветвленной цепью или разветвленной цепью, содержащему определенное количество атомов углерода.

Выражение "галоген" относится к фтору, хлору, брому или йоду.

Выражение "циклоалкил" относится к карбоциклическому кольцу, содержащему определенное количество атомов углерода.

Выражение "алкокси" относится к алкильной группе (цепи углерода и водорода), отдельно связанной с кислородом, как например, метоксигруппа или этоксигруппа.

Фармацевтически приемлемые соли соединений формулы (I) включают их соли присоединения кислоты и основания. Подходящие соли присоединения кислоты образуются от кислот, которые образуют нетоксичные соли. Подходящие основные соли образуются от оснований, которые образуют нетоксичные соли.

Соединения по настоящему изобретению также могут находиться в несольватированной и сольватированной формах. Выражение "сольват" применяется в данном документе для описания молекулярного комплекса, содержащего соединение по настоящему

изобретению и одну или несколько молекул фармацевтически приемлемого растворителя, например, этанола.

Выражение "полиморф" относится к способности соединения по настоящему изобретению находиться в нескольких формах или кристаллических структурах.

Соединения по настоящему изобретению могут присутствовать в так называемой форме "таутомера(ов)", которая относится к изомерам органических соединений, которые легко подвергаются взаимопревращению путем химической реакции, называемой таутомеризация. Результатом данной реакции является симметричная миграция атома водорода или протона, сопровождаемая образованием одинарной связи и сопутствующей двойной связи.

Соединения по настоящему изобретению могут вводиться в виде кристаллических или аморфных продуктов. Они могут быть получены, например, в виде твердых пробок, порошков или пленок посредством способов, таких как осаждение, кристаллизация, лиофильная сушка, распылительная сушка или сушка выпариванием. Они могут вводиться отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими соединениями по настоящему изобретению или в комбинации с одним или несколькими другими лекарственными средствами. В основном, они будут вводиться в виде состава в сочетании с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями. Выражение "вспомогательное вещество" применяется в данном документе для описания любого ингредиента, отличного от соединения(й) по настоящему изобретению. Выбор вспомогательного вещества в большей степени зависит от факторов, таких как конкретный способ введения, влияние вспомогательного вещества на растворимость и стабильность и природа лекарственной формы.

Соединения по настоящему изобретению или любая их подгруппа могут быть составлены в различные фармацевтические формы для целей введения. В качестве подходящих композиций могут приводиться все композиции, обычно применяемые для системного введения лекарственных средств. Для получения фармацевтических композиций по настоящему изобретению

эффективное количество конкретного соединения, необязательно в форме соли присоединения, в качестве активного ингредиента объединяют в однородную смесь с фармацевтически приемлемым носителем, при этом носитель может принимать широкое разнообразие форм в зависимости от формы препарата, необходимой для введения. Целесообразно, чтобы данные фармацевтические композиции находились в виде единичной лекарственной формы, подходящей, например, для перорального, ректального или чрескожного введения. Например, при получении композиций в пероральной лекарственной форме может применяться любая из общепринятых фармацевтических сред, такая как, например, вода, гликоли, масла, спирты и т.п. в случае пероральных жидких препаратов, таких как суспензии, сиропы, настойки, эмульсии и растворы; или твердых носителей, таких как крахмалы, сахара, каолин, разбавители, смазывающие средства, связующие, средства для улучшения распадаемости и т.п. в случае порошков, пилюль, капсул и таблеток. Благодаря своей простоте введения таблетки и капсулы представляют собой наиболее предпочтительные пероральные формы единицы дозирования, в случае которых очевидно применяются твердые фармацевтические носители. Также включены препараты твердой формы, которые незадолго до применения могут быть превращены в жидкие формы. В композициях, подходящих для чрескожного введения, носитель необязательно включает средство усиления проникновения и/или подходящее смачивающее средство, необязательно комбинированное с подходящими добавками любой природы в минимальных пропорциях, при этом добавки не оказывают никакого значительного вредного воздействия на кожу. Указанные добавки могут облегчать введение в кожу и/или могут быть полезными для получения необходимых композиций. Данные композиции могут вводиться различными путями, например, такими как через трансдермальный пластырь, точно, в виде мази. Соединения по настоящему изобретению также могут вводиться посредством ингаляции или инсуффляции при помощи способов и составов, применяемых в данной области для введения таким путем. Таким образом, в основном соединения по настоящему изобретению могут вводиться в легкие в форме

раствора, суспензии или сухого порошка.

Особенно предпочтительно составление вышеуказанных фармацевтических композиций в единичной лекарственной форме для простоты введения и равномерности дозирования. Единичная лекарственная форма, применяемая в данном документе, относится к физически отдельным единицам, подходящим в качестве единичных дозировок, при этом каждая единица содержит предварительно установленное количество активного ингредиента, рассчитанное для получения желаемого терапевтического эффекта в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем. Примерами таких единичных лекарственных форм являются таблетки (включая таблетка с насечкой или таблетки, покрытые оболочкой), капсулы, пилюли, пакеты для порошкообразного продукта, пластинки, суппозитории, инъеклируемые растворы или суспензии и т.п., и их отдельное кратное количество.

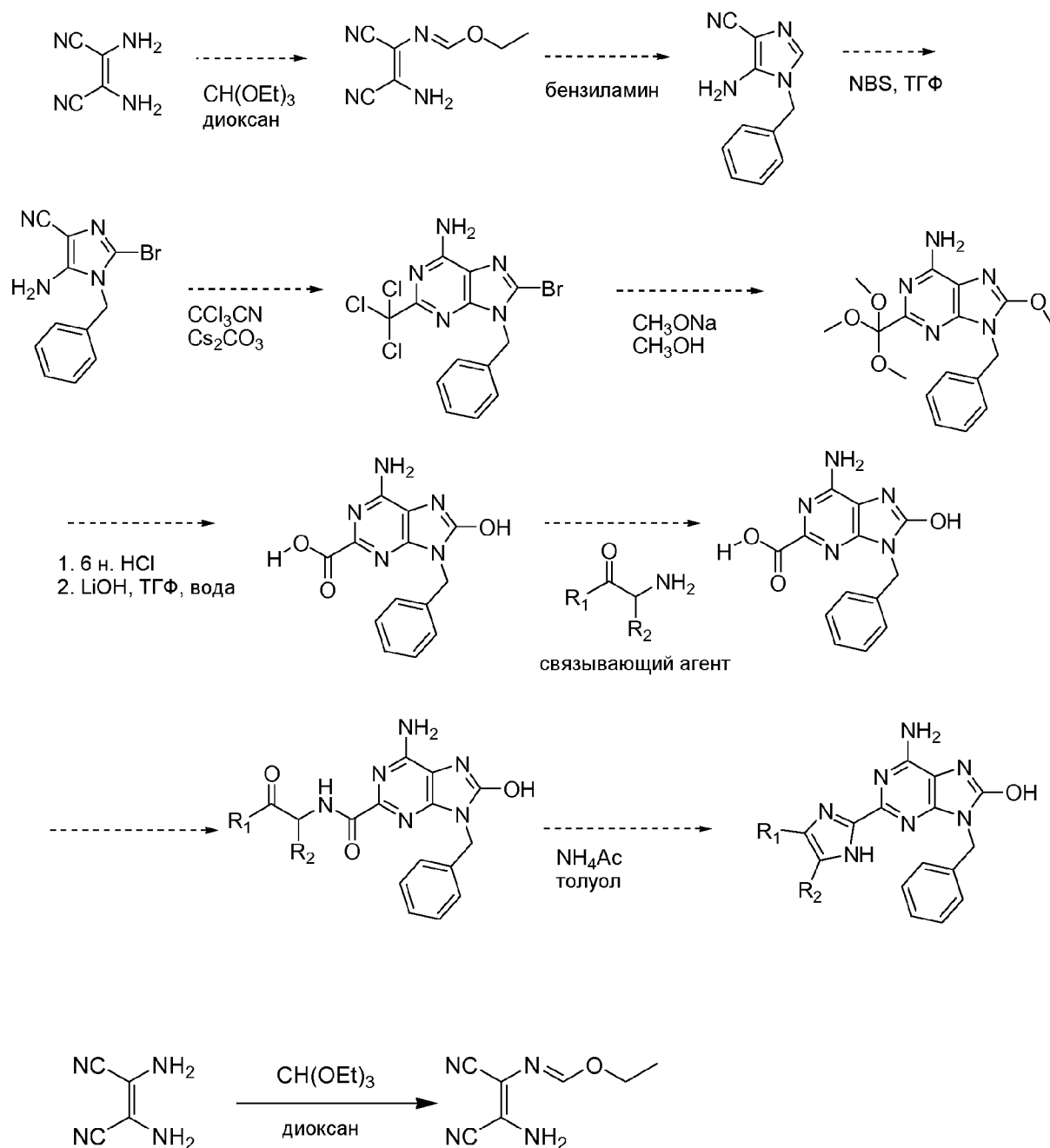
Специалисты в области лечения инфекционных заболеваний смогут определить эффективное количество исходя из результатов тестов, представленных далее в данном документе. В основном предполагается, что эффективное суточное количество может составлять от 0,01 до 50 мг/кг массы тела, более предпочтительно от 0,1 до 10 мг/кг массы тела. Может быть целесообразным введение необходимой дозы в виде двух, трех, четырех или более частей дозы при подходящих интервалах в течение дня. Указанные части дозы могут состояться в виде единичных лекарственных форм, например, содержащих от 1 до 1000 мг, и, в частности, от 5 до 200 мг активного ингредиента на единицу лекарственной формы.

Точная дозировка и частота введения зависит от конкретного применяемого соединения формулы (I), конкретного состояния, подлежащего лечению, тяжести состояния, подлежащего лечению, возраста, веса и общего физического состояния конкретного пациента, а также другой лекарственной терапии, которую может проходить человек, что является хорошо известным специалистам в данной области. Более того, очевидно, что эффективное количество может быть снижено или увеличено в зависимости от реакции человека проходящего лечение и/или в зависимости от

оценки врача, предписывающего соединения по настоящему изобретению. Таким образом, вышеупомянутые диапазоны эффективного количества являются только рекомендациями и не предназначены для ограничения в той или иной мере объема или применения настоящего изобретения.

Экспериментальная часть

Общая схема получения конечных соединений (способ 1)

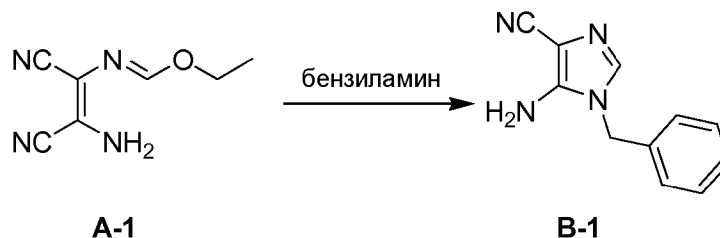


A-1

Получение промежуточного соединения A-1

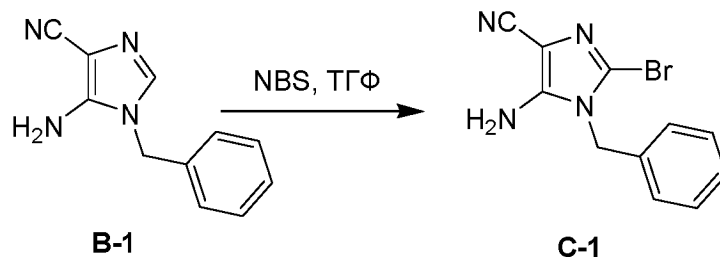
Диаминомалеонитрил (6 г, 55 ммоль) и триэтилортоформиат (9,2 мл, 55 ммоль) смешивали в 1,4-диоксане (95 мл) и нагревали

в условиях перегонки до тех пор, пока не собрали 65 мл 1,4-диоксана/этанола. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и растворитель выпаривали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии с применением градиента 25% этилацетат в петролейном эфире с получением 5 г А-1.



Получение промежуточного соединения В1

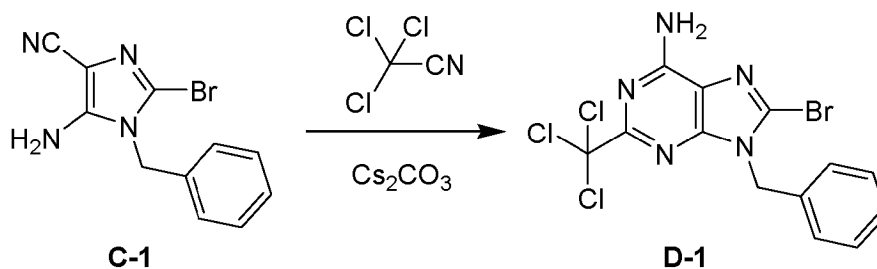
Бензиламин (2,86 мл, 26,3 ммоль) добавляли по каплям к раствору А-1 (4,1 г, 25 ммоль) и анилина гидрохлорида (50 мг) в этаноле (80 мл), перемешивая при 10°C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 часов. Реакционную смесь добавляли по каплям к 1М NaOH (50 мл), перемешивая при 10°C, и полученную в результате суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 18 часов. Твердый продукт собирали фильтрацией, промывали водой и высушивали в вакууме. Титульное соединение В-1 (4 г) получали в виде твердого вещества практически белого цвета.



Получение промежуточного соединения С-1

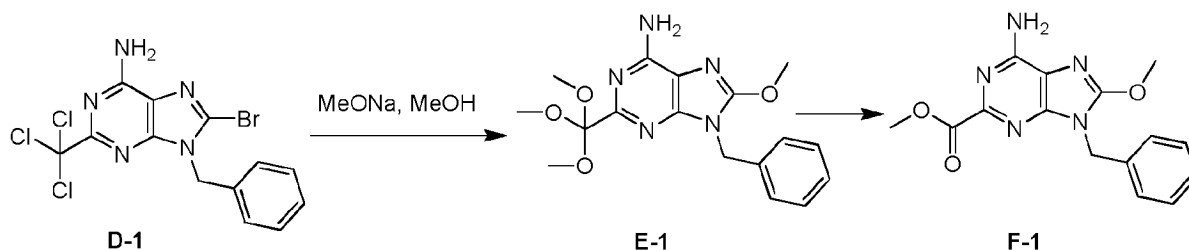
N-бромосукцинимид (4 г, 22 ммоль) по частям добавляли к суспензии В-1 (4 г, 20 ммоль) в ТГФ (50 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 минут. Растворитель выпаривали в вакууме и остаток экстрагировали из насыщенного водного раствора NaHCO₃ (50 мл) с этилацетатом (300 мл), высушивали над Na₂SO₄, твердые вещества удаляли фильтрацией и растворители из фильтрата удаляли при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии с

применением градиента дихлорметан - 5% метанол в дихлорметане. Наилучшие фракции объединяли, растворители удаляли при пониженном давлении с получением розового твердого вещества С-1 (3 г).



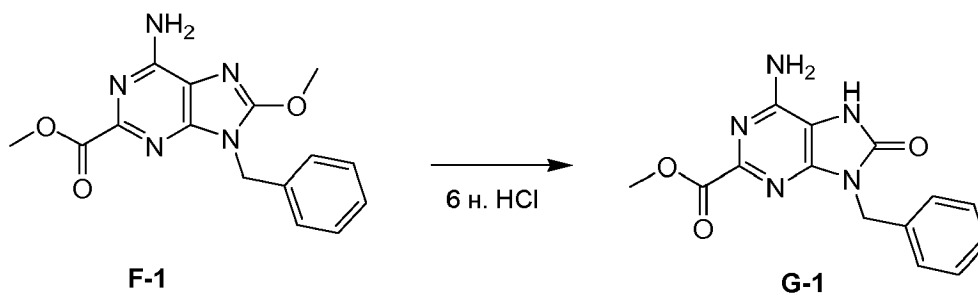
Получение промежуточного соединения D-1

Трихлорацетонитрил (4,8 г, 17,3 ммоль) добавляли к суспензии из С-1 (4 г, 14,4 ммоль) и Cs_2CO_3 (9,4 г, 29 ммоль) в толуоле (50 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 часов. Данную смесь выливали в воду (100 мл) и экстрагировали этилацетатом (3×50 мл), высушивали над Na_2SO_4 , твердые вещества удаляли фильтрацией и фильтрат концентрировали в вакууме. Остаток суспендировали в этаноле (20 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Полученное в результате твердое вещество собирали фильтрацией и промывали метанолом с получением практически белого твердого вещества D-1 (2,7 г).



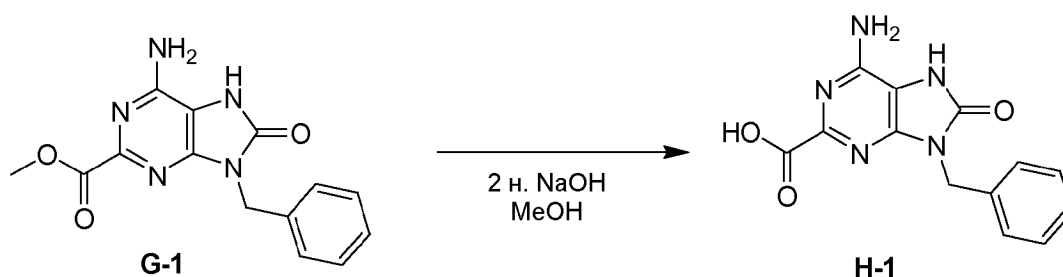
Получение промежуточного соединения F-1

Метоксид натрия (2,4 г, 0,06 моль) добавляли к суспензии D-1 (5 г, 12 ммоль) в метаноле (100 мл) и реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение 16 часов. Смесь охлаждали в ледяной бане и гасили реакцию водой. Метанол выпаривали в вакууме и остаток экстрагировали этилацетатом. Органический слой высушивали и концентрировали с получением F-1 (4,6 г неочищенного продукта).



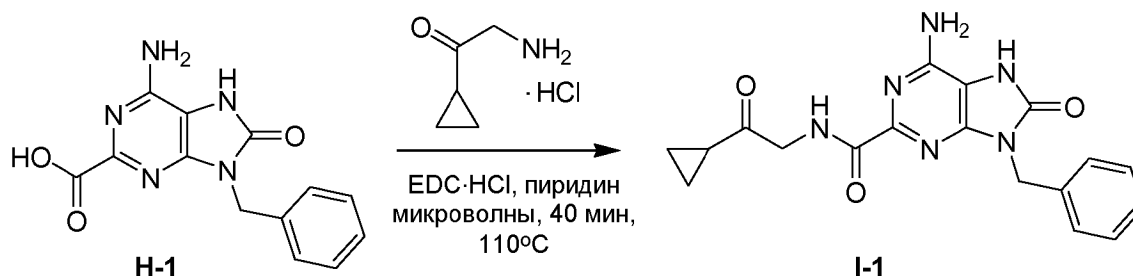
Получение промежуточного соединения G-1

Промежуточное соединение F-1 (4,6 г, 15 ммоль) суспендировали в 6 н. HCl (водн.) (75 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 32 часов при комнатной температуре. Данную смесь нейтрализовали аммиаком и полученный в результате осадок собирали фильтрацией и промывали водой с получением G-1 (3,2 г).



Получение промежуточного соединения H-1

2 н. NaOH (водн.) добавляли к раствору G-1 (1 г, 3,34 ммоль) в метаноле (50 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Метанол удаляли при пониженном давлении и реакционную смесь подкисляли до pH 2 с помощью 2 н. HCl (водн.). Полученный в результате осадок собирали фильтрацией и промывали водой с получением H-1 (0,95 г).

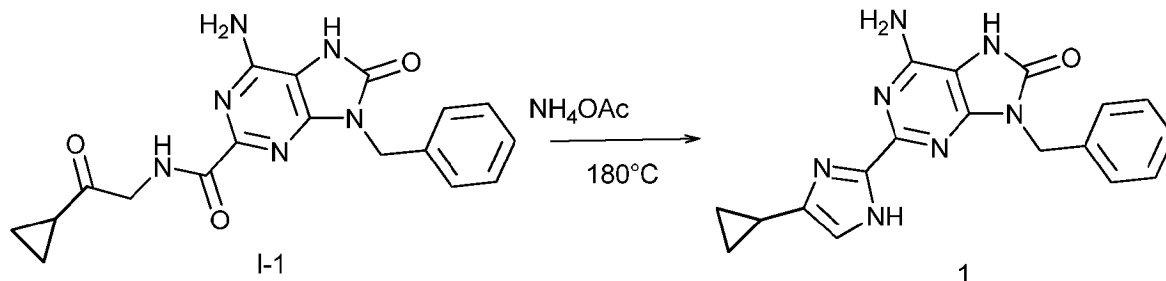


Получение промежуточного соединения I-1

Смесь из H-1 (500 мг, 1,4 ммоль), аминокетона 2 (284 мг, 1,6 ммоль) и EDCI (460 мг, 2,4 ммоль) в пиридине (10 мл) нагревали в микроволновой печи до 110 градусов C в течение 0,5

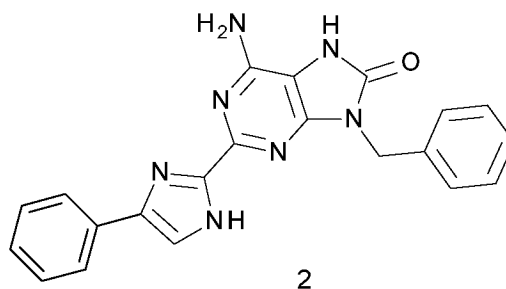
часа. Смесь концентрировали с получением неочищенного продукта, который промывали ацетонитрилом (10 мл) и холодной водой с получением промежуточного соединения I-1 в виде грязно-белого твердого вещества (0,5 г).

Соединение 1



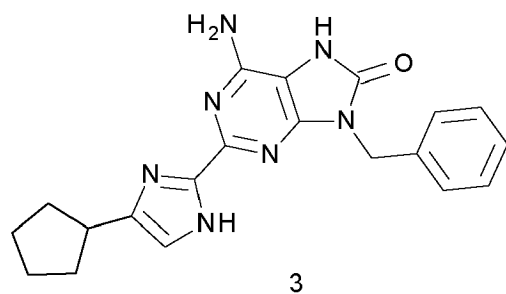
NH_4OAc (5 г) вносили в сосуд и нагревали в масляной бане до плавления. Затем добавляли I-1 (100 мг) и реакционную смесь нагревали в микроволновой печи в течение 1 часа при 180°C . Смесь выливали в воду и экстрагировали смешанным органическим растворителем (дихлорметан:изопропанол 3:1, 2×60 мл), высушивали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (высокоэффективной жидкостной хроматографии) с получением желтого твердого вещества 1 (105 мг).

Соединение 2



Соединение 2 синтезировали согласно процедуре для синтеза соединения 1 (230 мг).

Соединение 3

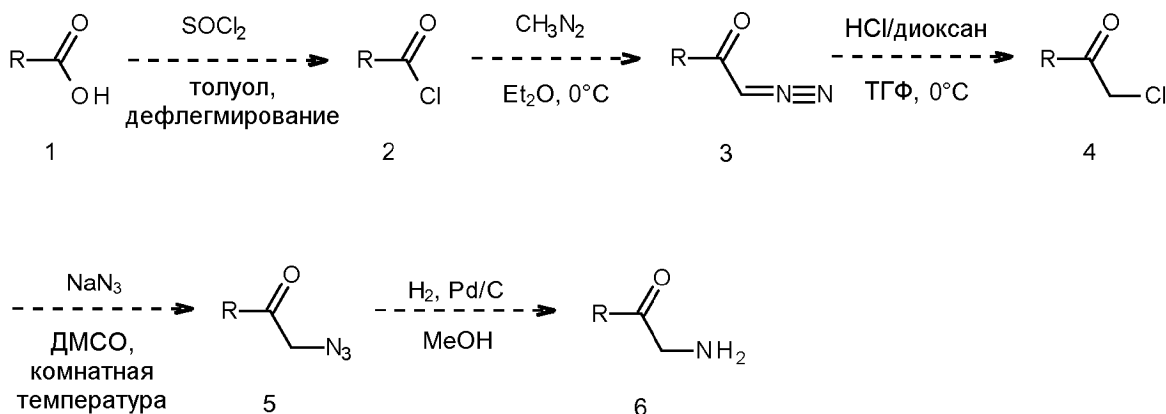


Соединение 3 синтезировали согласно процедуре для синтеза

соединения 1 (205 мг).

Общая процедура получения аминокетонов

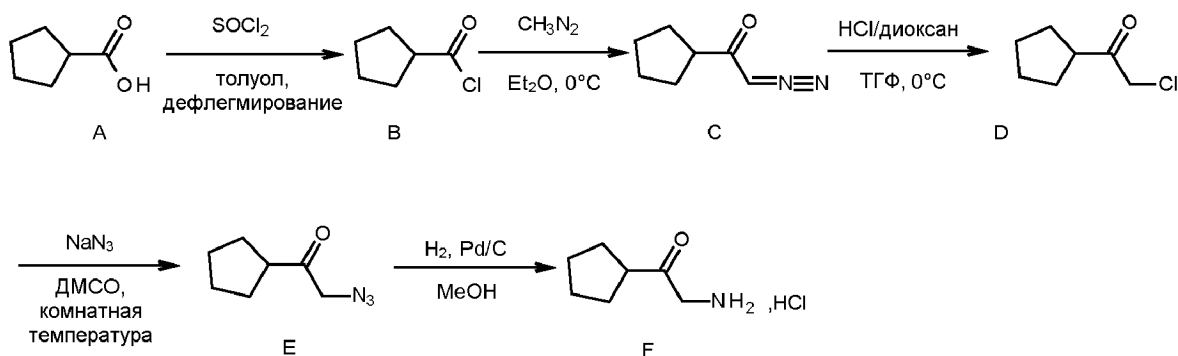
Общая химическая схема



Карбоновую кислоту (1) превращают в соответствующий хлорангидрид 2 с помощью тионилхлорида. Также возможно применение других хлорирующих средств, например, оксалилхлорида или оксихлорида фосфора). Хлорангидрид (2) обрабатывают диазометаном при пониженной температуре с получением диазокетона (3). Диазокетон (3) превращают в альфа-хлоркетон (4) посредством присоединения хлористоводородной кислоты при низкой температуре. Хлор в альфа-хлоркетоне замещают азидом (4) из соответствующего источника азидов, подобного натрию азиду, в присутствии, как правило, биполярного апротонного растворителя, например ДМСО.

Получение аминокетона 1

Схема реакции



Этап 1. К раствору А (15 г, 0,13 моль) в толуоле (50 мл) добавляли SOCl_2 (15 мл). Реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение 5 часов. Толуол удаляли при пониженном давлении. Получали хлорангидрид в виде коричневой жидкости (16 г) и непосредственно применяли на следующем этапе.

Этап 2. К раствору В (16 г, 0,12 моль) в диэтиловом эфире (100 мл) добавляли CH_2N_2 (200 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч. при данной температуре. Эфир удаляли в вакууме при комнатной температуре. Продукт очищали с помощью флеш-хроматографии (силикагель, элюент: петролейный эфир:этилацетат 10:1) с получением С (12 г).

^1H -ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц): δ (м.д.) 5,18 (шир.с, 1H), 2,65 (шир.с, 1H), 1,45-1,81 (м, 8H).

Этап 3. К раствору С (12 г, 0,096 моль) в ТГФ (65 мл) добавляли по каплям 4 н. HCl /диоксан при 0°C. Реакцию контролировали с помощью ТСХ. Реакцию нейтрализовали с помощью NaHCO_3 (насыщ. водн.). Смесь экстрагировали этилацетатом (2×150 мл), высушивали и концентрировали с получением D (11 г). Данный продукт сразу же применяли на следующем этапе.

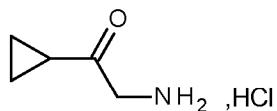
^1H -ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц): δ (м.д.) 4,10 (с, 2H), 3,04 (квинтет, $J=7,3$ Гц, 1H), 1,54-1,87 (м, 8H).

Этап 4. К раствору D (7,3 г, 0,05 моль) в ДМСО (30 мл) добавляли NaN_3 (3,9 г, 0,06 моль). Реакцию перемешивали в течение ночи и контролировали с помощью ТСХ. Реакционную смесь выливали в воду (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (2×100 мл), высушивали над сульфатом натрия, удаляли твердые вещества путем фильтрации и удаляли растворители из фильтрата при пониженном давлении. Неочищенный продукт удаляли с помощью хроматографии с силикагелем с применением градиента петролейный эфир - этилацетат с получением E (5,28 г).

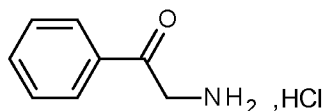
^1H -ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц): δ (м.д.) 3,93 (с, 2H), 2,83 (квинтет, $J=7,3$ Гц, 1H), 1,56-1,84 (м, 8H).

Этап 5. Смесь E (3,28 г, 0,02 моль), конц. HCl (1,8 мл, 0,02 моль) и 1 г Pd/C (10%) в 30 мл метанола перемешивали в течение ночи в атмосфере водорода при 50 фунтов/кв.дюйм (344,7 кПа). Реакционную смесь фильтровали и концентрировали с получением аминокетона-1 (2 г).

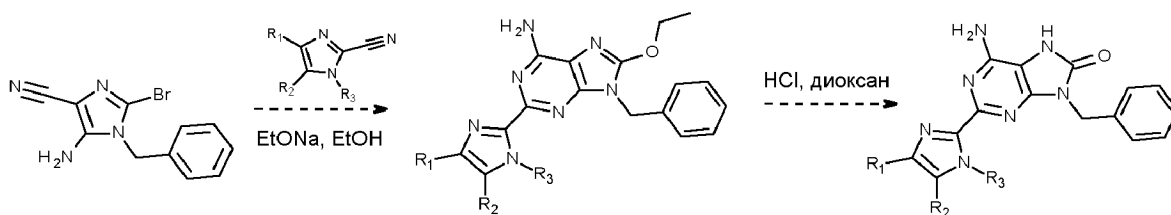
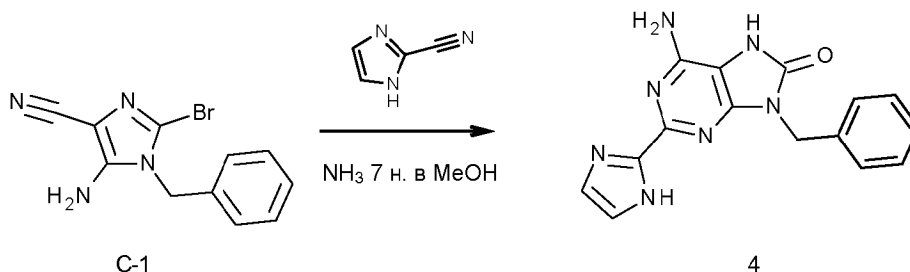
^1H -ЯМР (MeOD , 400 МГц): δ (м.д.) 4,03 (с, 2H), 3,01-3,12 (квинтет, $J=7,3$ Гц, 1H), 1,67-1,98 (м, 8H).

Аминокетон-2**Аминокетон 2**

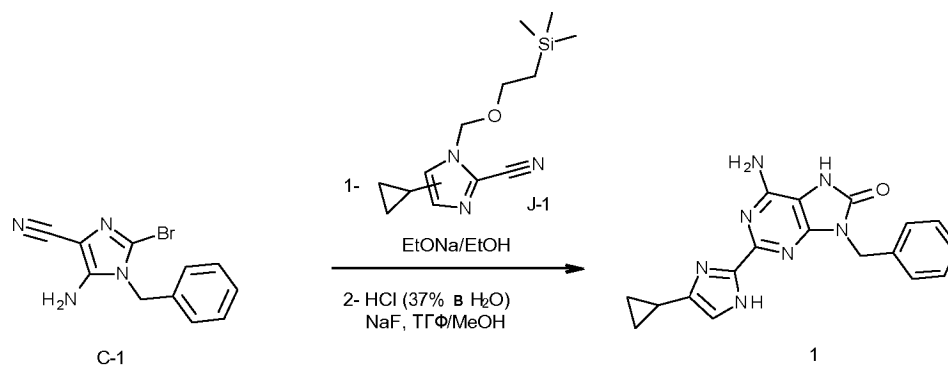
Аминокетон-2 получали в соответствии с процедурой для получения аминокетона-1.

Аминокетон 3**Аминокетон 3**

Аминокетон-3 получали в соответствии с процедурой для получения аминокетона-1.

Общая схема получения конечных продуктов (способ 2)Получение соединения 4

Смесь C-1 (1,6 г, 5,78 ммоль) (ее синтез описан в WO20060117670 на страницах 59-60: "Получение 6, 7 и 8", соответственно, для получения 5-амино-1-бензил-2-бром-1H-имидазол-4-карбонитрила) и 2-циано-имидазола (592 мг, 6,35 ммоль) в NH₃/MeOH (7 н.) (60 мл) перемешивали при 140°C в течение 48 часов в реакторе высокого давления. Выпаривали растворитель. Неочищенное соединение очищали с помощью колоночной хроматографии через колонку с силикагелем (15-40 мкм, 40 г) в DCM/MeOH/NH₄OH 97/3/0,5→95/5/0,5) с получением соединения 4 (78 мг, выход 4,4%).

Альтернативный синтез соединения 1Этап 1

EtONa (904 мг; 13,3 ммоль) добавляли к раствору 2-цианоимидазола I-1 (0,7 г; 2,66 ммоль) и промежуточного соединения C-1 (736 мг; 2,66 ммоль) в EtOH (30 мл). Смесь перемешивали при 90°C в течение 16 ч. Удаляли растворитель при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ЖХ (жидкостной хроматографии) (SiOH с зернами неправильной формы, 45 г Merck, подвижная фаза от 97/3/0,1 до 95/5/0,5) с получением 0,51 г SEM-защищенного этокси-промежуточного соединения в виде светло-желтого твердого вещества (выход 38%).

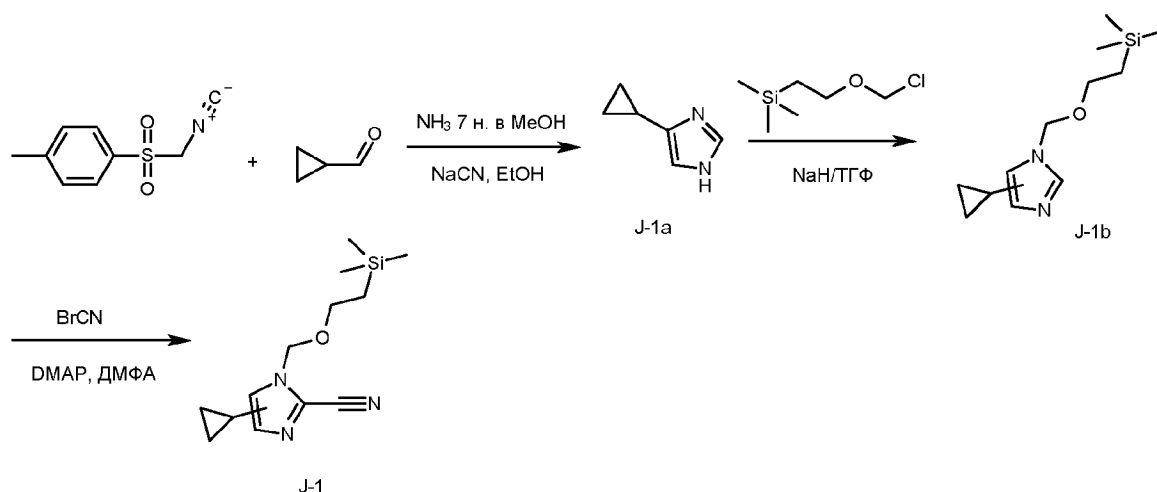
ВЭЖХ Rt (время удерживания) (мин.)=7,45; МС М+ (H⁺): 506 способ (v2003v2002)

Этап 2

NaF (170 мг; 4,05 ммоль) добавляли к раствору SEM-защищенного этокси-промежуточного соединения (0,41 г; 0,811 ммоль) в ТГФ (28 мл), HCl (37% в H₂O) (28 мл) и MeOH (10 мл). Смесь перемешивали при 40°C в течение 16 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры (RT) и добавляли 10% раствор K₂CO₃ до тех пор, пока pH раствора не стал щелочным. Водный слой насыщали порошком K₂CO₃ и продукт экстрагировали DCM/MeOH (5%) (3 раза). Объединенные органические слои высушивали над MgSO₄, фильтровали и удаляли растворитель при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с помощью ЖХ (SiOH с зернами неправильной формы 15-40 мкм, подвижная фаза DCM/MeOH/NH₃ водн. от 95/5/0,5 до 90/10/0,5) с получением 120 мг соединения 1 в виде белого порошка (выход 43%).

Синтез промежуточных продуктов 2-цианоимидазола

Синтез промежуточного соединения J-1



NaCN (360 мг; 7,35 ммоль) добавляли к суспензии циклопропанкарбоксальдегида (5 г; 71,3 ммоль) и тозилметилизотиоцианида (13,7 г; 69,9 ммоль) в EtOH (200 мл). Полученную в результате смесь перемешивали в течение 1 ч. при комнатной температуре. Растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток промывали смесью гептан/эфир (1:1). Бежевый сухой порошок перемешивали в NH_3/MeOH 7 н. (480 мл; 3,36 моль) и смесь перемешивали при 100°C в стальном сосуде высокого давления в течение 16 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры и растворитель выпаривали при пониженном давлении. $i\text{Pr}_2\text{O}$ добавляли к остатку и твердое вещество отфильтровывали. Фильтрат выпаривали досуха и неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ЖХ (SiOH с зернами неправильной формы 20–45 мкм, 1000 г DAVISIL). Подвижная фаза (0,5% NH_4OH , 94% DCM , 6% MeOH). Отбирали очищенную фракцию и выпаривали до получения 4,9 г промежуточного соединения J-1a в виде коричневого масла (65% выход).

^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$, 400 МГц): δ (м.д.) 8,60 (шир.с, 1H), 7,58 (с, 1H), 6,76 (с, 1H), 1,85 (м, 1H), 0,86 (м, 2H), 0,71 (м, 2H).

J-1a (4,84 г; 44,8 ммоль) в TGФ (60 мл) добавляли по каплям к суспензии NaH (1,97 г; 49,2 ммоль) в TGФ (200 мл) при 0°C в атмосфере N_2 . Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. и SEM-Cl (9,9 мл; 55,9 ммоль) в

ТГФ (20 мл) добавляли по каплям при 0°C. Смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере N₂ в течение 16 ч. Добавляли воду и экстрагировали продукт с помощью DCM. Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ЖХ (SiOH с зернами неправильной формы 20-45 мкм, 150 г Merck, градиент подвижной фазы от 50% DCM, 50% гептана до 100% DCM). Фракции, содержащие чистое соединение, объединяли и удаляли при пониженном давлении растворитель с получением 6,6 г J-1b в виде желтого масла (62%).

Смесь двух региоизомеров: 70/30

Минорный региоизомер:

¹H-ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц): δ (м.д.) 7,64 (с, 1H), 6,56 (с, 1H), 5,34 (с, 1H), 3,45 (т, J=8,08 Гц, 2H), 1,73-1,78 (м, 1H), 0,80-0,86 (м, 2H), 0,72-0,74 (м, 2H), 0,52-0,57 (м, 2H), -0,04 (с, 9H).

Основной региоизомер:

¹H-ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц): δ (м.д.) 7,56 (с, 1H), 6,94 (с, 1H), 5,20 (с, 1H), 3,43 (т, J=8,08 Гц, 2H), 1,73-1,78 (м, 1H), 0,80-0,86 (м, 2H), 0,72-0,74 (м, 2H), 0,56-0,62 (м, 2H), -0,04 (с, 9H).

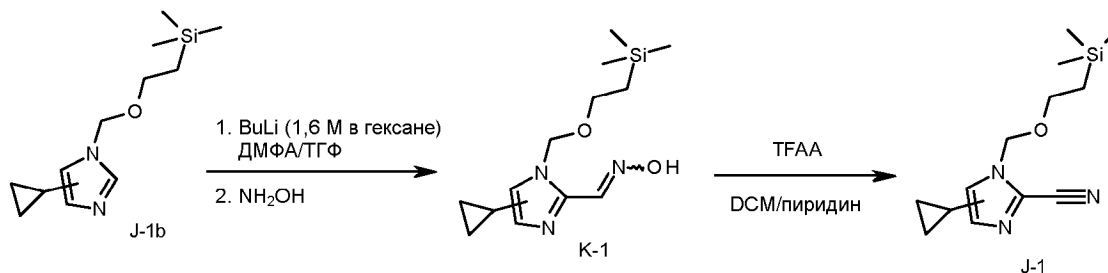
BrCN (6,11 г; 57,7 ммоль) добавляли к раствору DMAP (7,05 г; 57,7 ммоль) в ДМФА (60 мл) при 10°C. Реакция являлась экзотермической до 35°C, и образовывался бледно-желтый осадок. Смесь охлаждали до 10°C и добавляли J-1b (5,5 г; 23,1 ммоль). Смесь перемешивали при 40°C в течение 6 ч. Добавляли воду и экстрагировали продукт с помощью Et₂O (2 раза). Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель удаляли при пониженном давлении.

Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ЖХ (SiOH с зернами неправильной формы 15-40 мкм, 220 г grace, подвижная фаза гептан/DCM от 50/50 до 10/90) с получением 2,2 г неочищенного J-1, которое дополнительно очищали с помощью препаративной ЖХ (SiOH с зернами неправильной формы 15-40 мкм, 90 г Merck, подвижная фаза гептан/DCM 30/70) с получением 0,94

г J-1 в виде смеси двух региоизомеров (выход 15%).

ВЭЖХ Rt (мин.)=6,11; МС М+ (H⁺): 264 (способ V1004V1012)

Альтернативный синтез промежуточного соединения J-1



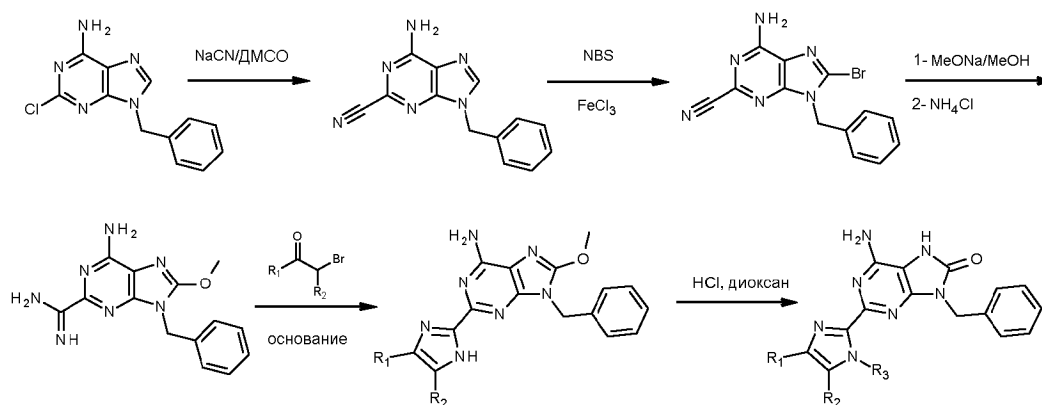
BuLi (1,6 М в гексане) (11 мл; 17,6 ммоль) добавляли к раствору J-1b (3,5 г; 14,7 ммоль) в ТГФ (60 мл) при -50°C. Смесь перемешивали при той же температуре в течение 30 мин. и добавляли ДМФА (1,7 мл; 22 ммоль). Смесь медленно нагревали до комнатной температуры в течение 1 ч., добавляли NH₂OH·HCl (970 мг; 29,4 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Добавляли воду и продукт экстрагировали DCM (3 раза), промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄ и растворитель удаляли при пониженном давлении с получением 4,1 г (количественный выход) смеси изомеров K-1 в виде желтого масла.

ВЭЖХ Rt (мин.)=5,30, 5,41 и 5,90; МС М+ (H⁺): 282 (способ V2002V2002)

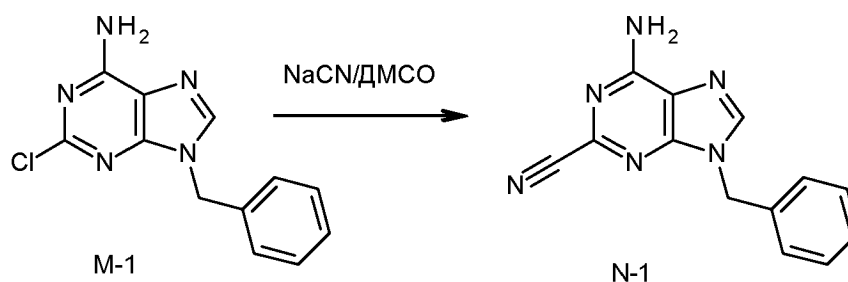
K-1 (3,1 г; 11 ммоль) растворяли в DCM (18 мл) и пиридине (19 мл) при комнатной температуре. Смесь охлаждали до 0°C и добавляли TFAA (4,6 мл; 33 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток растворяли в AcOEt. Органический слой промывали водой и солевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ЖХ (SiOH с зернами неправильной формы 15-40 мкм, 90 г merck, подвижная фаза гептан/DCM от 30/70 до DCM 100%) с получением 2,14 г промежуточного соединения J-1 (73%) в виде смеси двух изомеров.

ВЭЖХ Rt (мин.)=6,51; МС М+ (H⁺): 264 (способ V2002V2002)

Общая схема получения конечных продуктов (способ 3)



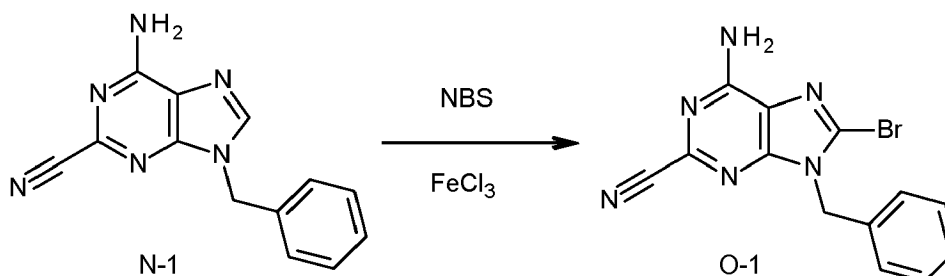
Синтез промежуточного соединения N-1



В микроволновой печи СЕМ смесь М-1 (его синтез был, например, описан в WO2006117670, на страницах 57-58 "Получение 1-4", соответственно, с получением 6-амино-9-бензил-2-хлор-7,9-дигидропурин-8-она) (9,7 г, 37,351 ммоль), NaCN (3,11 г, 63,50 ммоль) в ДМСО (100 мл) перемешивали при 150°C в течение 4 ч. Смесь выливали в воду и отфильтровывали, промывали водой и высушивали под вакуумом при 60°C с получением 8,6 г промежуточного соединения N-1.

ВЭЖХ Rt (мин.)=5,23; МС М+ (H⁺): 251 (способ V2003V2002)

Синтез промежуточного соединения O-1

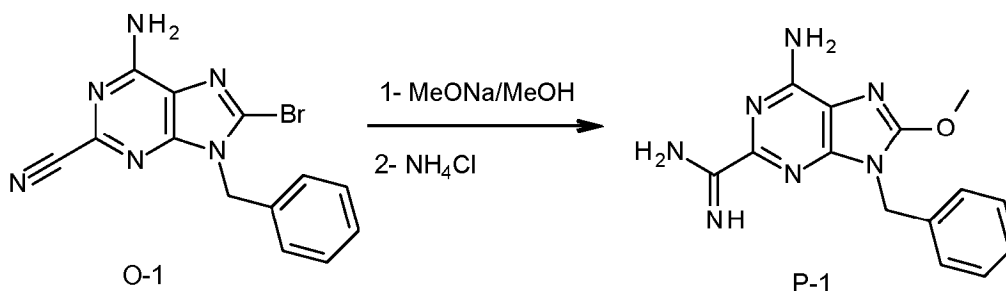


FeCl₃ (на кончике шпателя) добавляли к смеси N-1 (3,70 г, 147,84 ммоль) и NBS (26,2 г, 147,845 ммоль) в CHCl₃ (60 мл). Смесь перемешивали и нагревали с обратным холодильником в течение 3 ч., а затем охлаждали до комнатной температуры. Осадок отфильтровывали. Фильтрат выпаривали и очищали с помощью

флеш-хроматографии через силикагель (15-40 мкм, 120 г, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 99-1) с получением 4,5 г неочищенного промежуточного соединения O-1. Фракцию поглощали с помощью CH_2Cl_2 и осадок отфильтровывали с получением 1,8 г промежуточного соединения O-1.

ВЭЖХ Rt (мин.)=5,77; МС M^+ (HCH_3CN^+): 370-372 (способ V2003V2002)

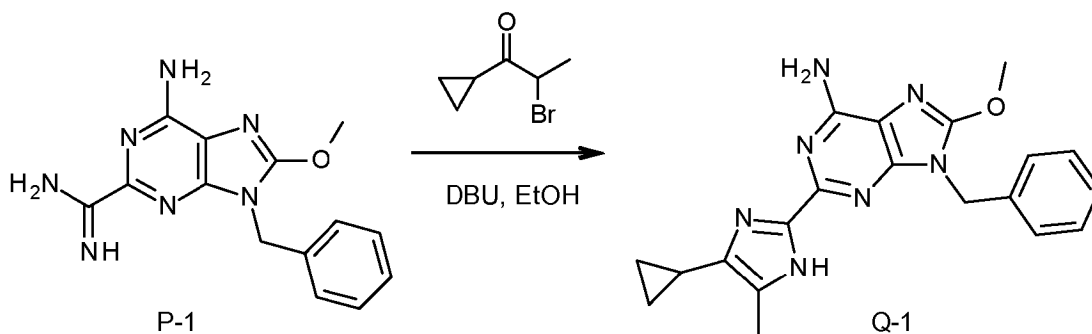
Синтез промежуточного соединения P-1



Смесь O-1 (0,82 г, 2,491 ммоль), MeONa/MeOH (30 вес.% раствор) (1,15 мл, 6,228 ммоль) в MeOH (15 мл) перемешивали при 50°C в течение 2 ч. Добавляли NH_4Cl (333 мг, 6,228 ммоль) и смесь перемешивали, и нагревали с обратным холодильником в течение 2 ч. Растворитель выпаривали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с помощью флеш-хроматографии через силикагель (15-40 мкм, 90 г, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_4\text{OH}$: 85-14-1). Собирали и концентрировали очищенные фракции при пониженном давлении с получением 0,55 г промежуточного соединения P-1 (выход 74%).

ВЭЖХ Rt (мин.)=4,46; МС M^+ (H^+): 298 (способ V2003V2002)

Синтез промежуточного соединения Q-1

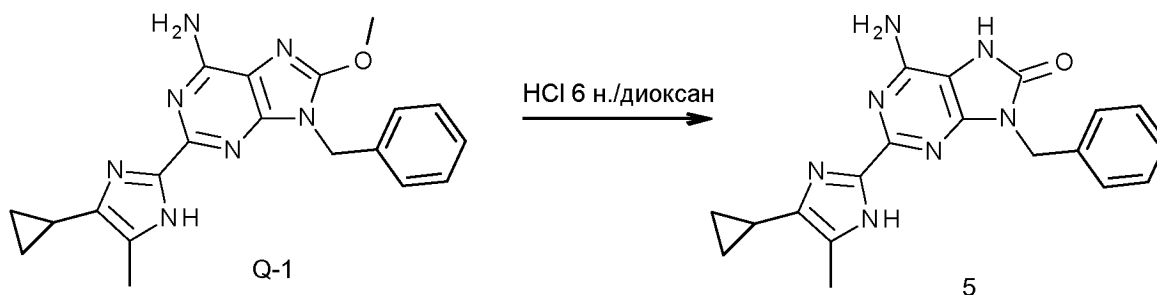


2-бром-1-циклопропилпропан-1-он (104 мг, 0,589 ммоль) добавляли по каплям к смеси P-1 (175 мг, 0,589 ммоль) и DBU (0,264 мл, 1,766 ммоль) в EtOH (5 мл). Смесь перемешивали и

нагревали с обратным холодильником в течение 5 ч. Растворитель концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с помощью флеш-хроматографии через силикагель (15-40 мкм, 40 г, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_4\text{OH}$: 95/5/0,1). Очищенные фракции собирали и концентрировали при пониженном давлении с получением 40 мг промежуточного соединения Q-1. Неочищенное соединение применяли непосредственно на следующем этапе.

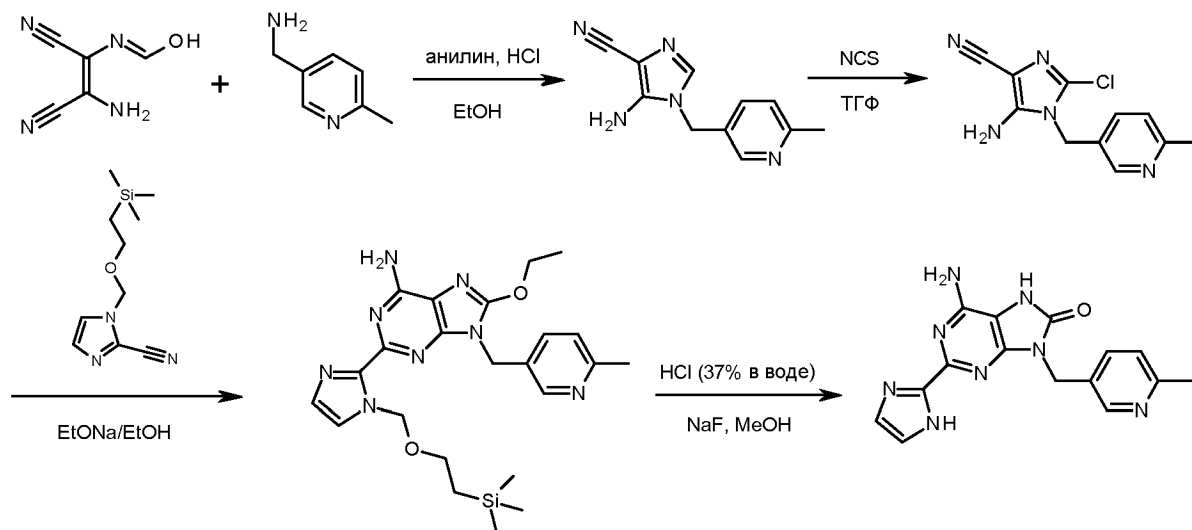
ВЭЖХ Rt (мин.)=5,35; МС M^+ (H^+): 376 (способ V1005V1012)

Синтез конечного соединения 5

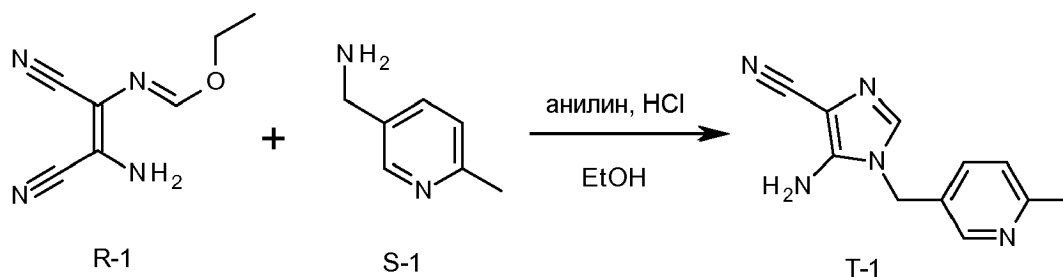


Смесь Q-1 (40 мг, 0,107 ммоль) в 6 н. HCl (1 мл) и диоксане (1 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч. Смесь частично выпаривали при пониженном давлении. Раствор охлаждали до 0°C, ошелачивали NaHCO_3 и экстрагировали с помощью $\text{EtOAc}-\text{CH}_3\text{OH}$ (90-10). Объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , отфильтровывали и выпаривали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с помощью флеш-хроматографии через силикагель (15-40 мкм, 10 г, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_4\text{OH}$:88-12-0,5). Собирали чистые фракции и концентрировали при пониженном давлении. Полученное в результате твердое вещество (35 мг) выкристаллизовывали из Et_2O с получением 25 мг соединения 5 (выход 64%, Т.пл.>260°C).

Общая схема получения конечных продуктов (способ 4)



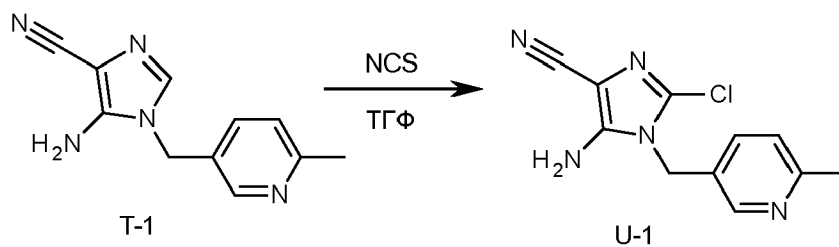
Синтез промежуточного соединения T-1



S-1 (синтез описан в J. Med. Chem. 1996, 39, 13, 2586-2593) (1,14 г; 9,33 ммоль) добавляли по каплям к раствору R-1 (синтез описан в WO2006/117670) (1,46 г; 8,89 ммоль) и анилина, HCl (18 мг; 0,14 ммоль) в EtOH (30 мл) при 10°C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 ч. Водный раствор 3 М NaOH (30 мл) добавляли по каплям к раствору при 10°C и полученную в результате смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Водный слой экстрагировали с помощью DCM (3 раза). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором NaHCO₃, высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 1,20 г T-1 в виде коричневого твердого вещества (выход 63%). T-1 применяли на следующем этапе без дополнительной очистки.

ВЭЖХ Rt (мин.)=4,45; МС М+ (H⁺): 214 (способ V1010V1012)

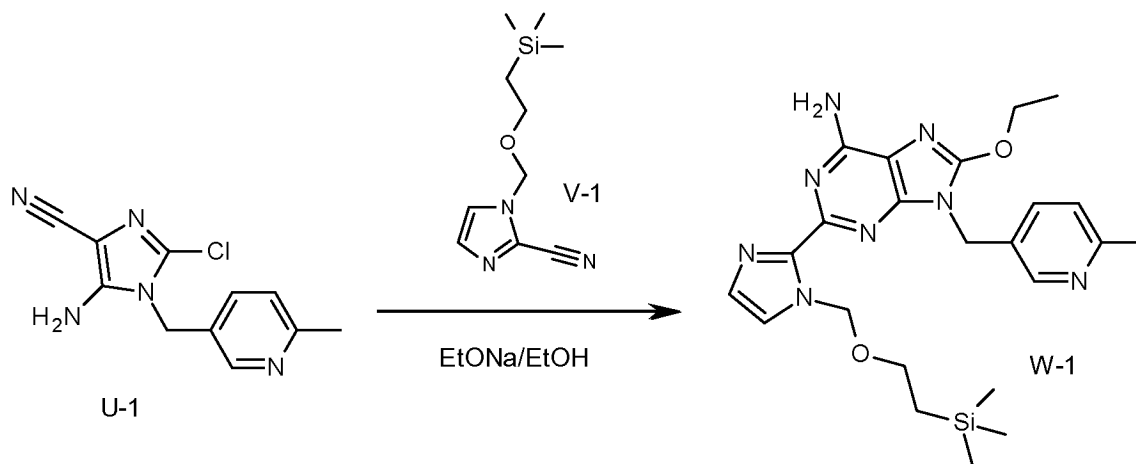
Синтез промежуточного соединения U-1



Раствор NCS (475 мг; 3,56 ммоль) в ТГФ (10 мл) добавляли по каплям к раствору Т-1 (690 мг; 3,24 ммоль) в ТГФ (35 мл). Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 20 ч. в потоке N_2 . Раствор NCS (260 мг; 1,94 ммоль) в ТГФ (5 мл) добавляли по каплям к раствору. Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. в потоке N_2 . Смесь поглощали DCM, промывали насыщенным водным раствором NaHCO_3 , промывали соевым раствором, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали в вакууме с получением 950 мг коричневого твердого вещества. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ЖХ (SiOH с зернами неправильной формы 15–40 мкм, 40 г Grace, жидкий образец, подвижная фаза: от 98% DCM, 2% MeOH до 90% DCM, 10% MeOH). Фракции, содержащие чистое соединение, объединяли и удаляли растворитель под вакуумом с получением 200 мг U-1 в виде коричневого твердого вещества (выход 25%).

ВЭЖХ Rt (мин.)=5,13; МС M^+ (H^+): 248–250 (способ V2012V2002)

Синтез промежуточного соединения W-1

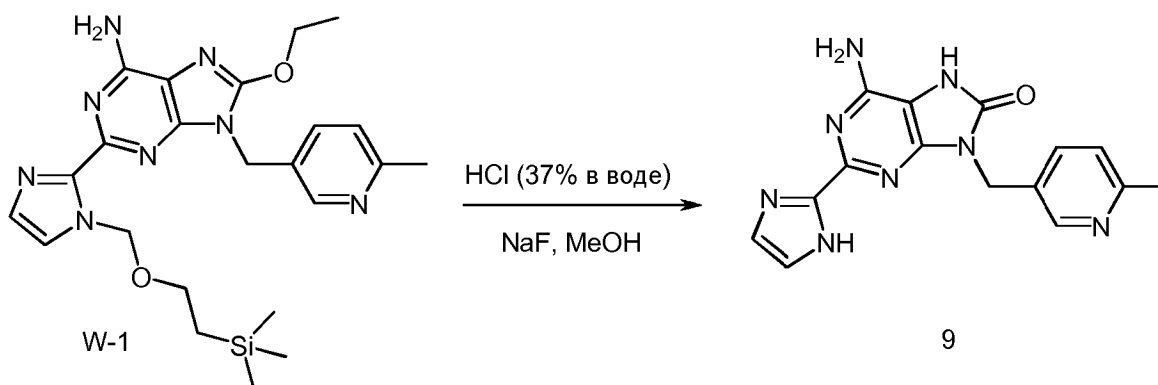


EtONa (398 мг; 5,85 ммоль) добавляли к раствору U-1 (290 мг; 1,17 ммоль) и V-1 (270 мг; 1,21 ммоль) в EtOH (15 мл). Смесь перемешивали при 90°C в течение 16 ч. Растворитель

удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ЖХ (SiON с зернами неправильной формы 15-40 мкм, 50 г Merck, твердый образец, подвижная фаза 97/3/0,1). Фракции, содержащие чистое соединение, объединяли и удаляли растворитель с получением 210 мг W-1 в виде светло-желтого твердого вещества (выход 37%).

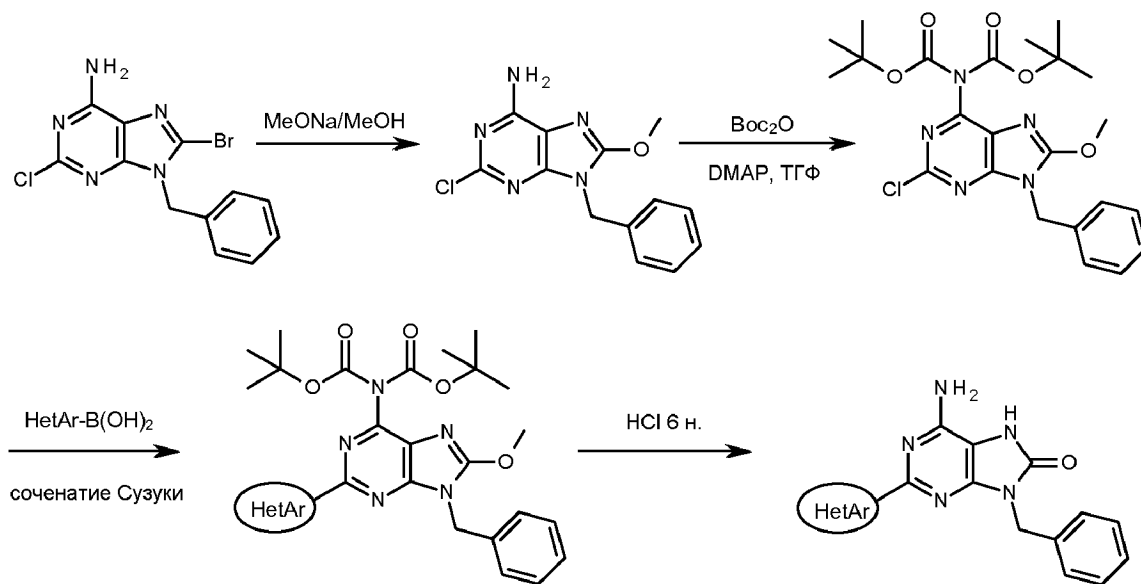
ВЭЖХ Rt (мин.)=6,68; МС М+ (H⁺): 248-250 (способ V1010V1012)

Синтез соединения 9

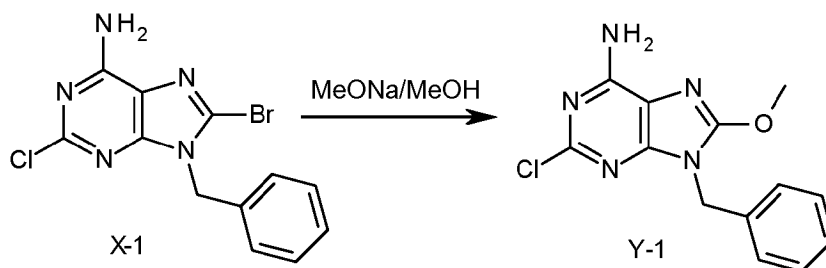


NaF (91 мг; 2,18 ммоль) добавляли к раствору W-1 (210 мг; 0,44 ммоль) в HCl 37% в воде (15 мл) и MeOH (10 мл). Смесь перемешивали при 40°C в течение 16 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры и 10% водный раствор K₂CO₃ добавляли до получения щелочного pH. Водный слой насыщали порошком K₂CO₃ и продукт экстрагировали с помощью DCM/MeOH (95/5) (3 раза). Объединенные органические слои высушивали над MgSO₄, фильтровали и удаляли растворитель при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ЖХ (SiOH с зернами неправильной формы 15-40 мкм, Merck 10 г, подвижная фаза DCM/MeOH/NH₃ водн. от 93/3/0,1 до 85/15/1). Фракции, содержащие чистое соединение, объединяли растворитель удаляли в вакууме и титрульное соединение высушивали в вакууме в течение 16 ч. при 60°C с получением 9,8 мг соединения 9 (6%) в виде светло-коричневого твердого вещества. Т.пл. >260°C.

Общая схема получения конечных продуктов (способ 5)



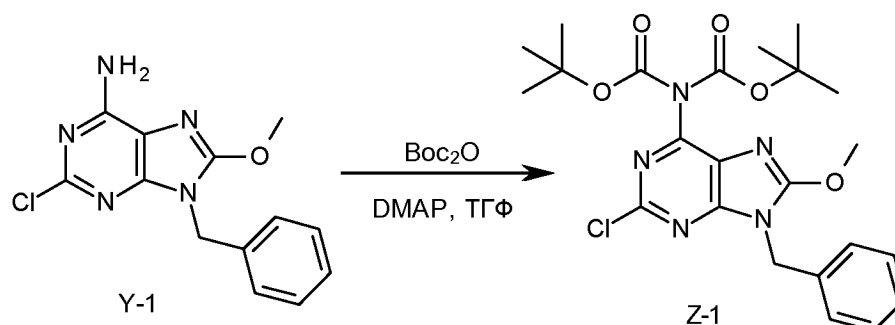
Синтез промежуточного соединения Y1



Метоксид натрия (30 вес.% в MeOH) (15,6 мл, 84,172 ммоль) добавляли по каплям к смеси X1 (синтез описан в Bioorg. Med. Chem., 11, 2003, 5501-5508) (5,7 г, 16,834 ммоль) в MeOH (150 мл) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при 60°C в течение 6 ч. и затем охлаждали до комнатной температуры. Осадок отфильтровывали и высушивали с выходом Y1 3,25 г. Неочищенное соединение применяли на следующем этапе.

ВЭЖХ Rt (мин.)=5,53; МС М+ (H⁺): 290-292 (способ V2003V2002)

Синтез промежуточного соединения Z-1

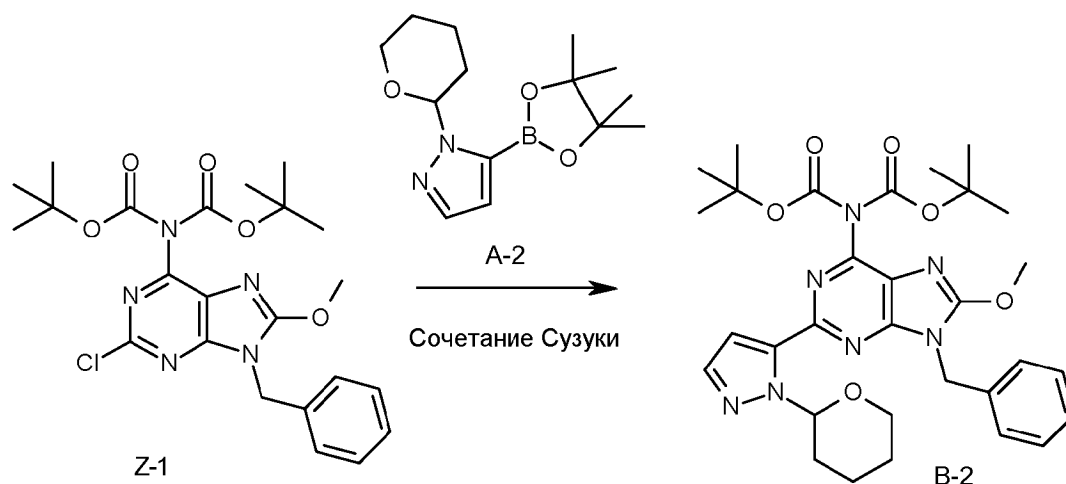


Boc₂O (3,0 г, 13,806 ммоль) добавляли в потоке N₂ к смеси

Y-1 (1,0 г, 3,452 ммоль), DMAP (42 мг, 0,345 ммоль) в ТГФ (10 мл) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при 80°C в течение 2 ч. Смесь выливали в воду и экстрагировали EtOAc. Органический слой промывали водой, сушили над MgSO₄, фильтровали и выпаривали растворитель. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ЖХ на (SiOH с зернами неправильной формы 20-45 мкм, 450 г MATREX). Подвижная фаза (градиент от 98% DCM, 2% AcOEt до 95% DCM, 5% AcOEt) с получением 0,825 г Z-1 (выход 49%, Т. пл.=159°C).

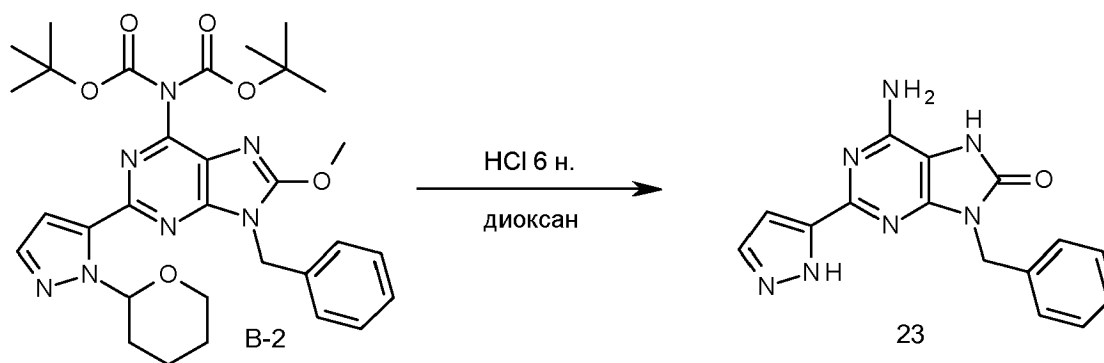
ВЭЖХ Rt (мин.)=4,43; МС М+ (H⁺): 490-492 (способ
V2015V2007)

Синтез промежуточного соединения В-2



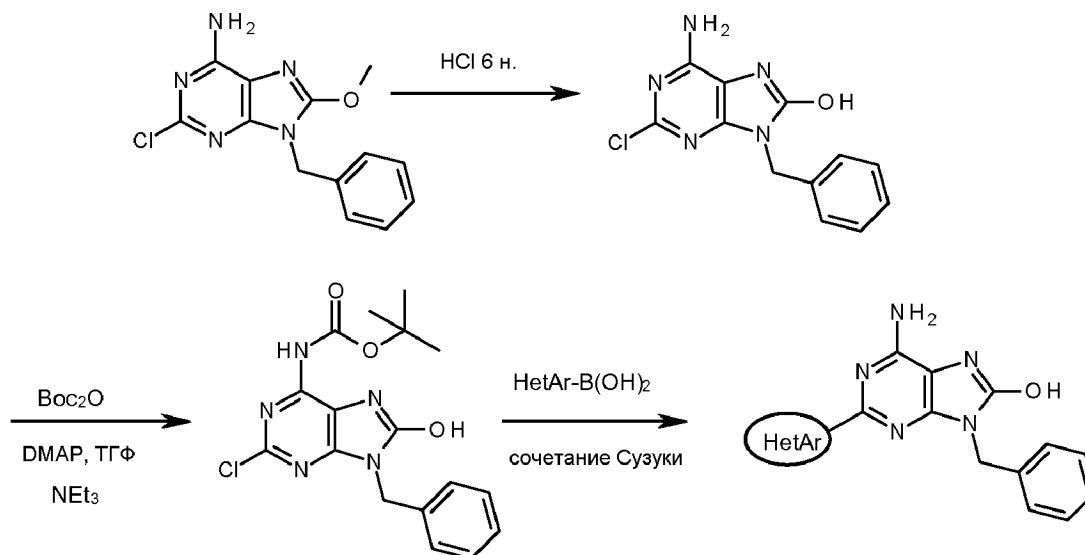
Раствор Z-1 (300 мг, 0,612 ммоль), A-2 (255 мг, 0,918 ммоль) и NaHCO_3 (257 мг, 3,06 ммоль) в смеси диоксан/вода (4/1) (3 мл) дегазировали барботированием с помощью N_2 в течение 10 мин. Добавляли тетракис-(трифенилфосфин)-палладий (142 мг, 0,122 ммоль) и смесь перемешивали при 100°C в течение 5 ч. Добавляли воду и EtOAc и декантировали слои. Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc. Органические слои объединяли, сушили над MgSO_4 , фильтровали и растворитель выпаривали на следующем этапе без дополнительной очистки.

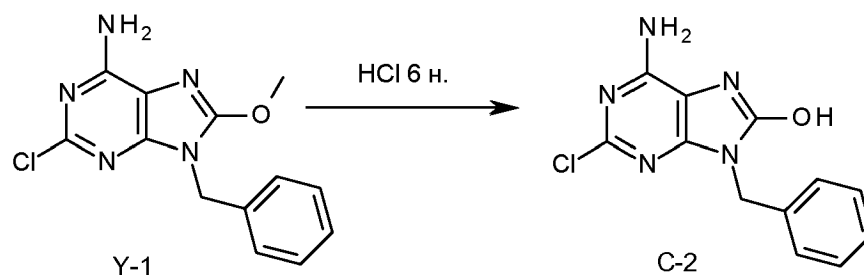
Синтез конечного соединения 23



HCl 6 н. (10 мл) добавляли к раствору В-2 (0,7 г, 1,15 ммоль) в диоксане (7 мл) при 0°C. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. и затем охлаждали до 0°C и ошелачивали с помощью K₂CO₃. Смесь экстрагировали с помощью EtOAc+CH₃OH (90-10). Объединенные органические слои сушили над MgSO₄, фильтровали и выпаривали растворитель. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ЖХ на (силикагель с зернами правильной формы 5 мкм 150×30,0 мм). Подвижная фаза (градиент от 0,3% NH₄OH, 97% DCM, 3% MeOH до 1,4% NH₄OH, 86% DCM, 14% MeOH) с выходом 67 мг конечного соединения 23 после кристаллизации из CH₃OH (выход 19%).

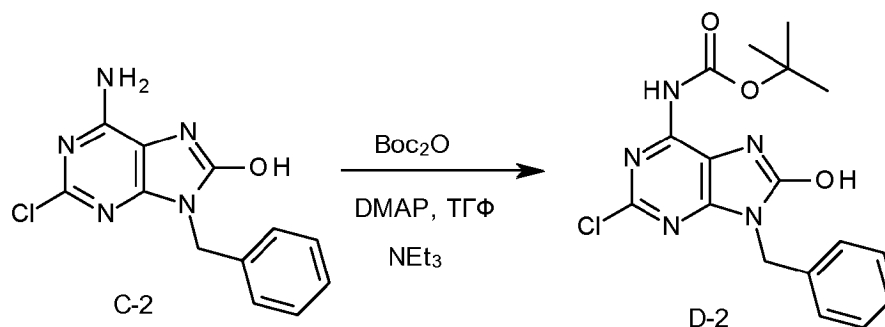
Общая схема получения конечных продуктов (способ 6)



Синтез промежуточного соединения C-2

Смесь Y-1 (0,53 г, 1,829 ммоль) в 6 н. HCl (5 мл) и диоксана (5 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Осадок отфильтровывали, промывали минимальным количеством холодного диоксана и сушили с получением 0,28 г неочищенного продукта C-2, который применяли на следующем этапе без дополнительной очистки.

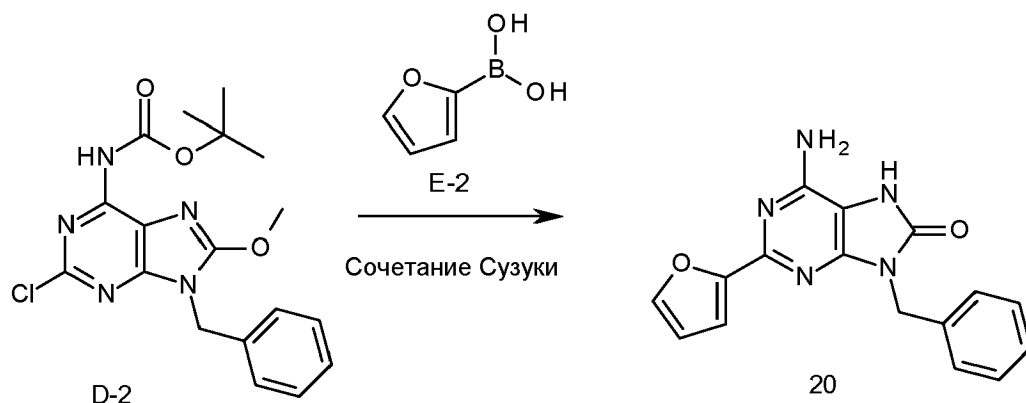
ВЭЖХ Rt (мин.)=4,96; МС М+ (H⁺): 276-278 (способ V2003V2002)

Синтез промежуточного соединения D-2

NEt₃ (0,187 мл, 1,345 ммоль) и затем Boc₂O (0,215 г, 0,987 ммоль) добавляли к смеси C-2 (0,28 г, 0,897 ммоль) и DMAP (11 мг, 0,0897 ммоль) в ТГФ (3 мл) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при 80°C в течение 2 ч. Добавляли воду и EtOAc. Слои декантировали. Органический слой сушили над MgSO₄, фильтровали и растворитель испаряли с выходом 0,18 г промежуточного соединения D-2. Неочищенное соединение применяли непосредственно на следующем этапе.

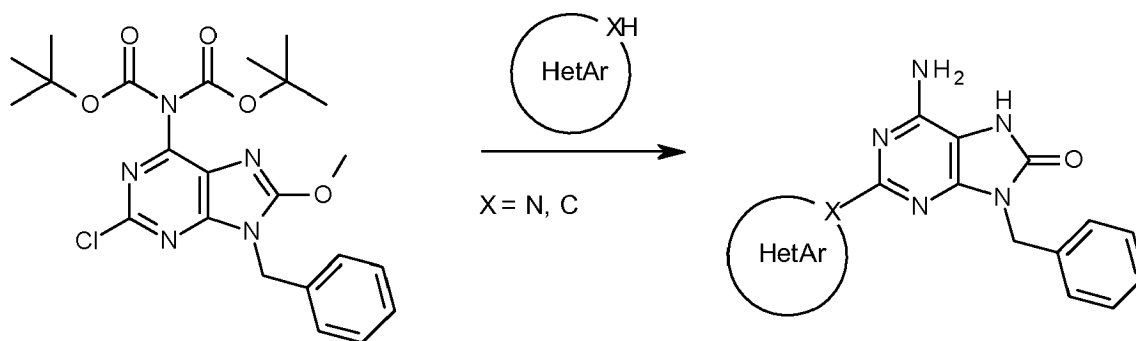
ВЭЖХ Rt (мин.)=6,31; МС М+ (H⁺): 376-378 (способ V2002V2002)

Синтез конечного соединения 20

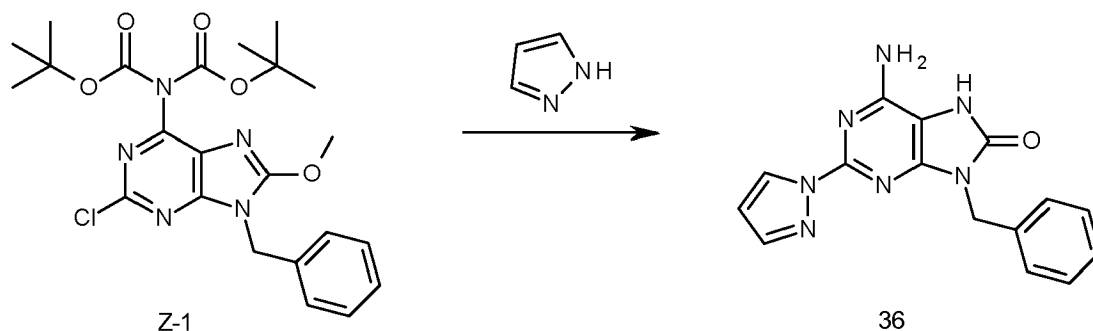


Раствор D-2 (240 мг, 0,64 ммоль), E-2 (107 мг, 0,96 ммоль) и NaHCO_3 (269 мг, 3,2 ммоль) в смеси диоксан/вода (4/1) (3,2 мл) дегазировали барботированием N_2 в течение 10 мин. Добавляли тетракис-(трифенилфосфин)-палладий (148 мг, 0,13 ммоль) и смесь перемешивали при 100°C в течение 16 ч. Добавляли воду и EtOAc и декантировали слои. Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc. Органические слои объединяли, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель выпаривали. Неочищенный продукт очищали на обратной фазе с выходом 13 мг конечного соединения 20 (выход 6%).

Общая схема получения конечных продуктов (способ 7)

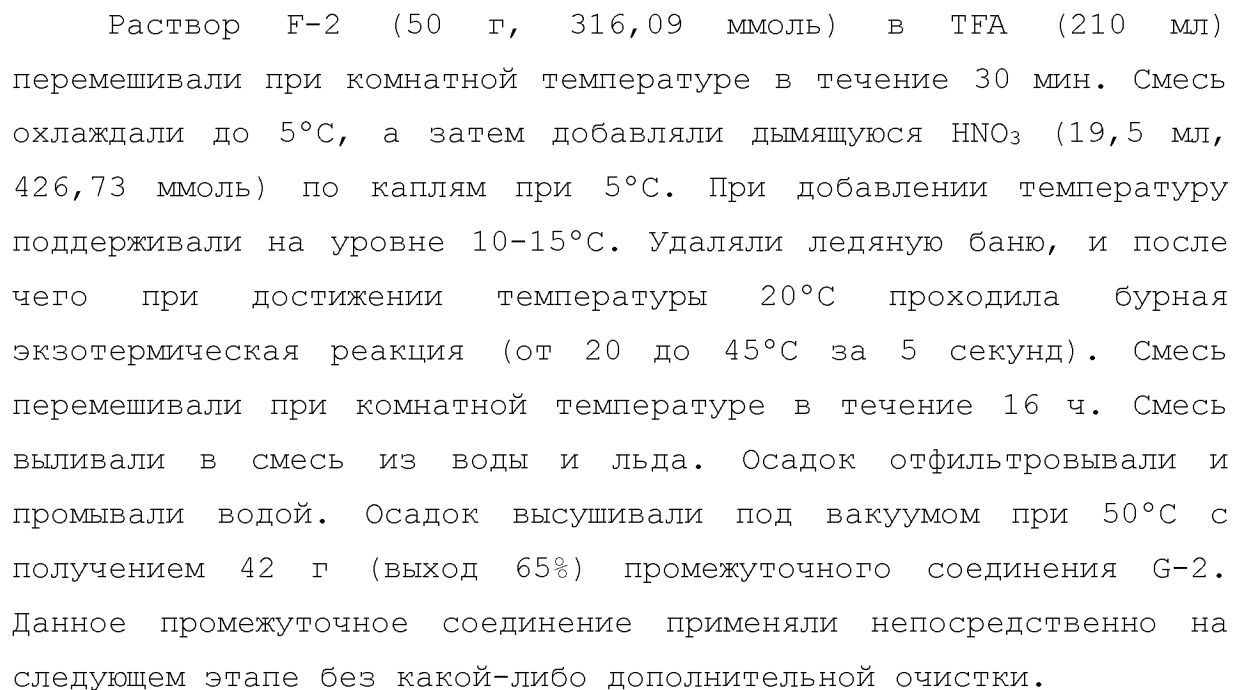


Синтез конечного соединения 36



Смесь Z-1 (300 мг, 0,612 ммоль) и пиразола (417 мг, 6,123 ммоль) перемешивали при 180°C в течение 1 ч. (микроволновый

Синтез промежуточного соединения G-2

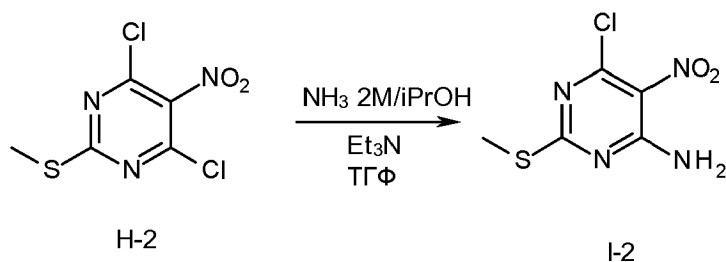


G-2
 H-2

N,N-диметиланилин (76,7 мл, 0,61 моль) добавляли по каплям к POCl₃ (93,7 мл, 1,01 моль) при 0°C. G-2 (41 г, 201,79 ммоль) добавляли по частям при 0°C, а затем смесь нагревали до 100°C в течение 2 ч. Раствор концентрировали в вакууме и удаляли остаточный POCl₃ путем азеотропной перегонки с толуолом (3

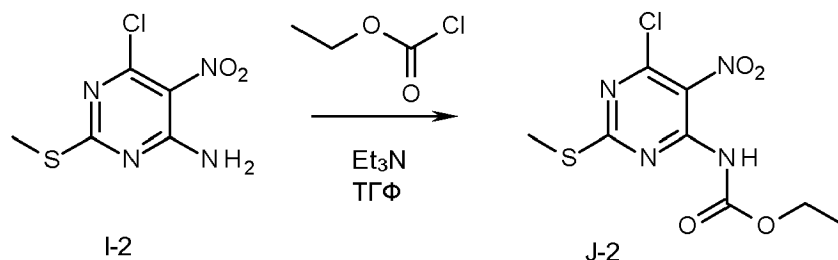
раза). Полученное в результате масло поглощали раствором CH_2Cl_2 -гептана (70-30) и фильтровали через стеклянный фильтр, содержащий SiO_2 . Фильтрат концентрировали и остаток очищали с помощью препаративной ЖХ на (SiOH с зернами неправильной формы 20-45 мкм, 1000 г DAVISIL), подвижная фаза (80% гептан, 20% CH_2Cl_2). Собирали очищенные фракции и концентрировали с получением 37,8 г (выход 78%) промежуточного соединения Н-2.

Синтез промежуточного соединения I-2



Раствор NH_3 2 М в $i\text{PrOH}$ (115 мл, 229,31 ммоль) добавляли по каплям к раствору Н-2 (36,7 г, 152,87 ммоль) и Et_3N (23,4 мл, 168,16 ммоль) в ТГФ (360 мл) (при добавлении температуру поддерживали на уровне RT с помощью бани с ледяной водой). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч. Смесь выпаривали досуха. Воду и EtOAc добавляли к остатку. Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (дважды). Объединенные органические слои сушили над MgSO_4 , фильтровали и удаляли растворитель при пониженном давлении с получением 34,5 г (выход 100%) промежуточного соединения I-2.

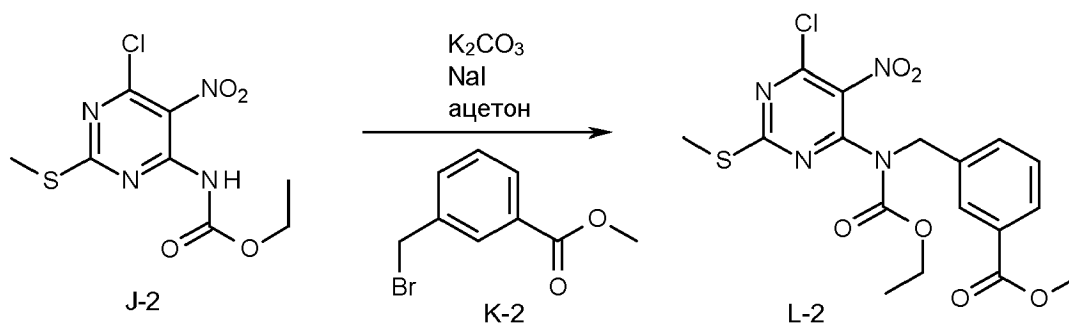
Синтез промежуточного соединения J-2



Этилхлорформиат (13,5 мл, 138,90 ммоль) добавляли к раствору I-2 (39,8 г, 126,27 ммоль) и Et_3N (26,5 мл, 189,40 ммоль) в ТГФ (1300 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч. и растворитель частично испаряли при пониженном давлении. Остаток поглощали CH_2Cl_2 и водой. Разделяли

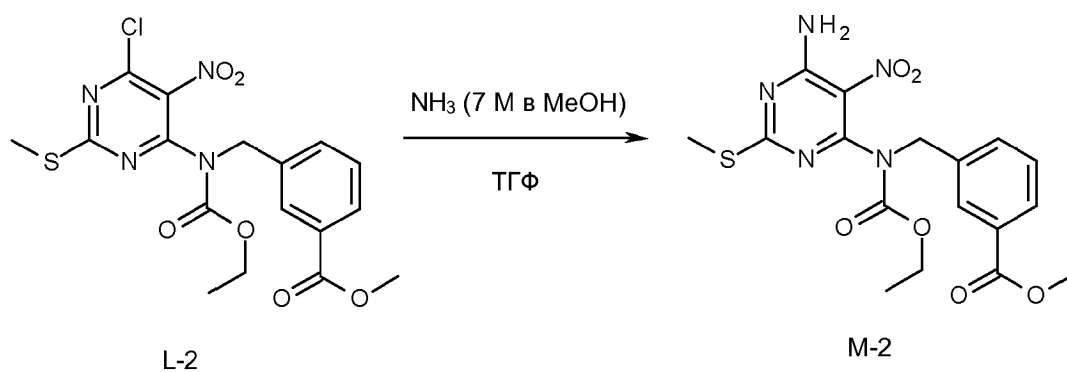
слои; водный слой экстрагировали CH_2Cl_2 (дважды). Объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , фильтровали и удаляли растворитель при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью ЖХ (на SiOH зернах неправильной формы 20–45 мкм, 1000 г DAVISIL), подвижная фаза (градиент от 85% гептана, 15% AcOEt до 80% гептана, 20% AcOEt). Очищенные фракции собирали и концентрировали с получением 35 г (выход 95%) промежуточного соединения J-2.

Синтез промежуточного соединения L-2



J-2 (5 г, 17,0 ммоль), K-2 (3,91 г, 17,0 ммоль), K_2CO_3 (5,90 г, 42,7 ммоль) и NaI (2,56 г, 17,0 ммоль) в ацетоне (130 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Раствор фильтровали и фильтрат выпаривали при пониженном давлении. Неочищенное соединение очищали с помощью препаративной ЖХ (SiOH с зерном неправильной формы 15–40 мкм, 120 г merck, твердая проба, подвижная фаза: гептан/ EtOAc от 100/0 до 80/20) с получением промежуточного соединения L-2 в виде бледно-желтого твердого вещества (выход 69%).

Синтез промежуточного соединения M-2



Реакцию завершали с получением двух партий по 2,7 г L-2.

Протокол для одной партии 2,7 г:

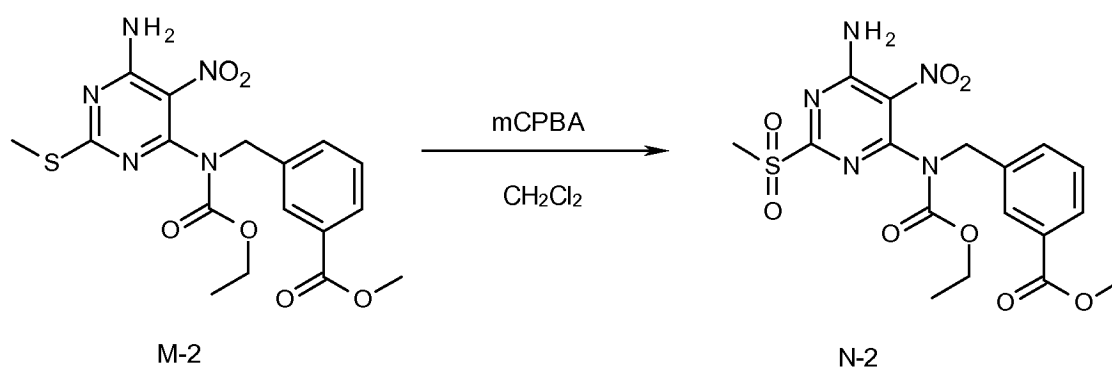
в запаянной пробирке L-2 (2,70 г, 6,12 ммоль) перемешивали

в NH_3 (7 М в MeOH) (50 мл) и ТГФ (50 мл) при комнатной температуре в течение 2 ч.

Смешивали две партии.

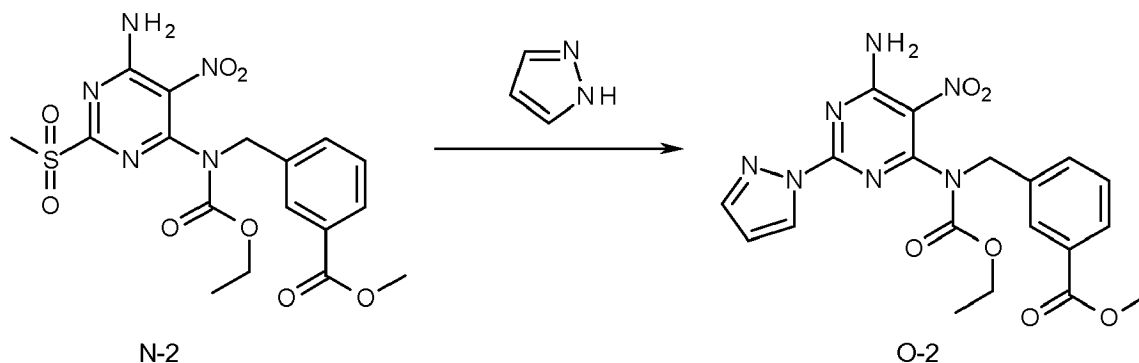
Смесь выпаривали в вакууме и остаток сушили с помощью азеотропной перегонки с EtOH (дважды) с получением желтого твердого вещества. Добавляли воду и EtOAc , слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (дважды). Объединенные органические слои сушили над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали в вакууме с получением 4,9 г промежуточного соединения М-2 в виде желтого твердого вещества (выход 90%).

Синтез промежуточного соединения N-2



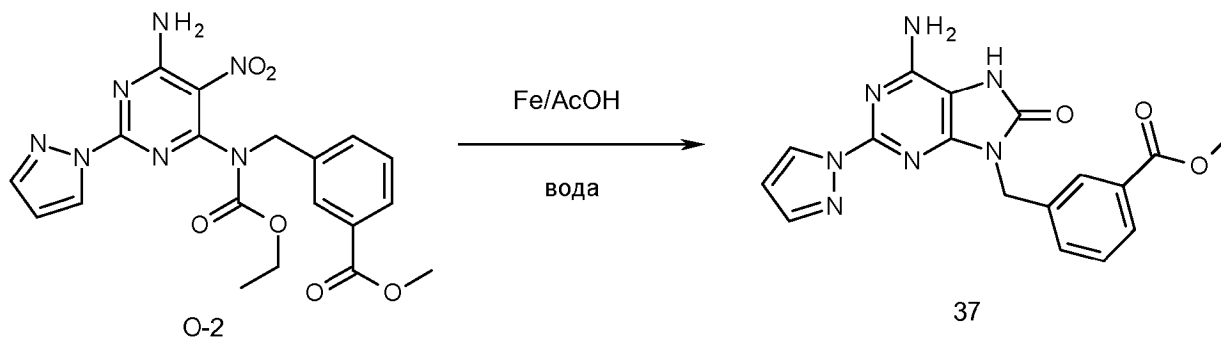
mCPBA (1,46 г, 5,93 ммоль) добавляли по частям к раствору М-2 (1 г, 2,37 ммоль) в CH_2Cl_2 (60 мл) при 0°C . Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 ч. Водный раствор $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ добавляли к смеси. Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью CH_2Cl_2 (дважды). Объединенные органический слои промывали насыщенным водным раствором NaHCO_3 , сушили над MgSO_4 , фильтровали и удаляли растворитель при пониженном давлении с получением 980 мг промежуточного соединения N-2 в виде желтого твердого вещества (выход 91%). Промежуточное соединение N-2 применяли на следующем этапе без дополнительной очистки.

Синтез промежуточного соединения O-2



Смесь N-2 (500 мг, 1,10 ммоль) и пиразола (750 мг, 11,0 ммоль) перемешивали при 80°C в течение 45 мин. Полученную в результате смесь поглощали EtOAc и 1 М водным раствором HCl. Слои разделяли, органический слой сушили над MgSO₄, фильтровали и сушили в вакууме с получением 550 мг желтого твердого вещества. Неочищенное соединение очищали с помощью препаративной ЖХ (SiOH с зерном неправильной формы 15-40 мкм, 25 г Grace, твердая проба, подвижная фаза: градиент от CH₂Cl₂/MeOH/NH₃ водн. 97/3/0,03 до 80/20/0,3) с получением 370 мг промежуточного соединения O-2 в виде твердого белого вещества (выход 76%).

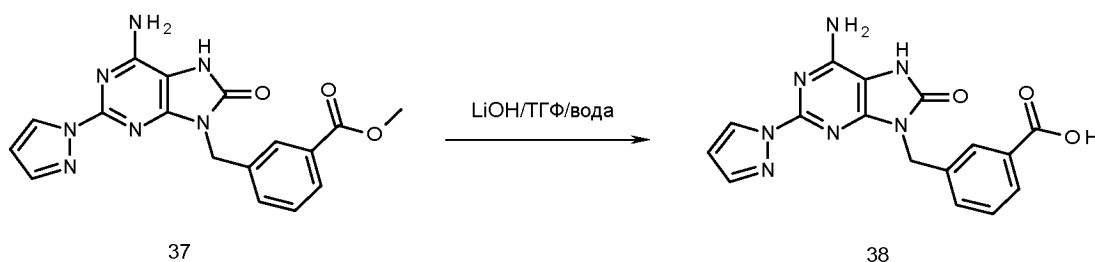
Синтез конечного соединения 37



Fe (280 мг, 5,01 ммоль) добавляли к смеси O-2 (365 мг, 827 мкмоль) в AcOH (17 мл) и воде (1,8 мл). Смесь энергично перемешивали при комнатной температуре в течение 64 ч. Реакционную смесь фильтровали через целитовую подушку, концентрировали в вакууме совместно выпаривали с толуолом (дважды) с получением темного остатка. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ЖХ (SiOH с зерном неправильной формы 15-40 мкм, 25 г Merck, твердая проба, градиент подвижная фаза: от CH₂Cl₂/MeOH/NH₃ водн. от 96/4/0,4 до 80/20/3) с

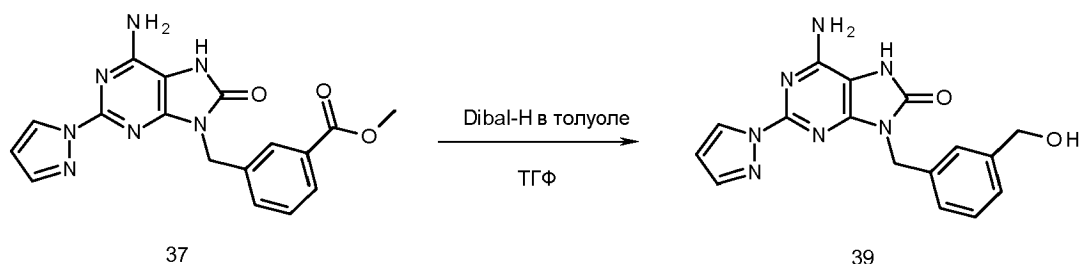
получением 250 мг белого твердого вещества, которое очищали снова с помощью препаративной ЖХ (SiOH с зерном неправильной формы 15-40 мкм, 25 г Merck, твердая проба, градиент подвижной фазы: от CH₂Cl₂/MeOH/NH₃ водн. 96/4/0,4 до 80/20/3) с получением 110 мг фракции 1 в виде белого твердого вещества (36%) и 25 мг фракции 2 в виде белого твердого вещества (8%). Общий выход: 45%. 8 мг фракции 2 сушили в вакууме в течение 16 ч. при 40°C с получением 6 мг конечного соединения 37 в виде белого твердого вещества.

Синтез конечного соединения 38



LiOH (9 мг, 123 мкмоль) добавляли к суспензии 37 (15 мг, 41,1 мкмоль) в THF (4 мл) и воде (5 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. 10% водный раствор K₂CO₃ добавляли до щелочного pH. Водный слой насыщали порошком K₂CO₃ и продукт экстрагировали с помощью CH₂Cl₂/MeOH (9/1) (3 раза). Объединенные органические слои сушили над MgSO₄, фильтровали и удаляли растворитель при пониженном давлении с получением 200 мг. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ЖХ (X-Bridge-C18, 5 мкм, 30×150 мм, подвижная фаза: градиент от H₂O (0,1% муравьиная кислота)/MeCN 90/10 до 0/100) с получением 12 мг конечного соединения 38 в виде белого твердого вещества (83%).

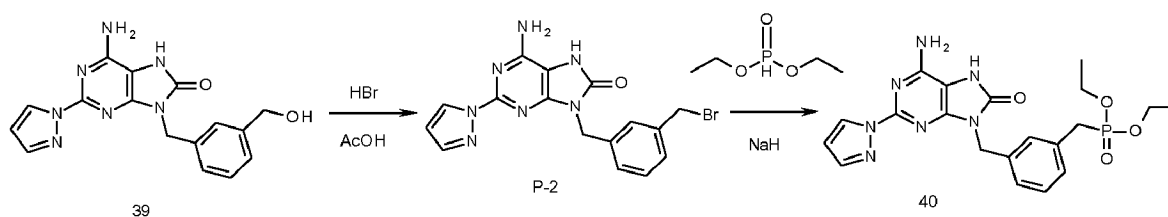
Синтез конечного соединения 39



Dibal-H (1,2 М в толуоле) (0,2 мл, 240 мкмоль) добавляли по каплям к раствору из 37 (30 мг, 82,1 мкмоль) в THF (3 мл) и

толуола (1 мл) в атмосфере азота при 0°C. Раствор перемешивали при 0°C в течение 2 ч. Добавляли Dibal-H (0,2 мл, 240 мкмоль) и раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Насыщенный водный раствор тартрата калия-натрия добавляли для нейтрализации реакции. Смесь разбавляли EtOAc с последующим энергичным перемешиванием в течение 30 мин. Органический слой отделяли от водного слоя, промывали солевым раствором, сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 40 мг. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ЖХ (SiOH с зерном неправильной формы 15-40 мкм, 4 г Grace, твердая проба, градиент подвижной фазы: от CH₂Cl₂/MeOH/NH₃водн. от 96/4/0,04 до 80/20/2) с получением белого твердого вещества. Полученное белое твердое вещество сушили в вакууме в течение 16 ч. при 40°C с получением 8 мг конечного соединения 39 (29%) в виде белого твердого вещества.

Синтез конечного соединения 40

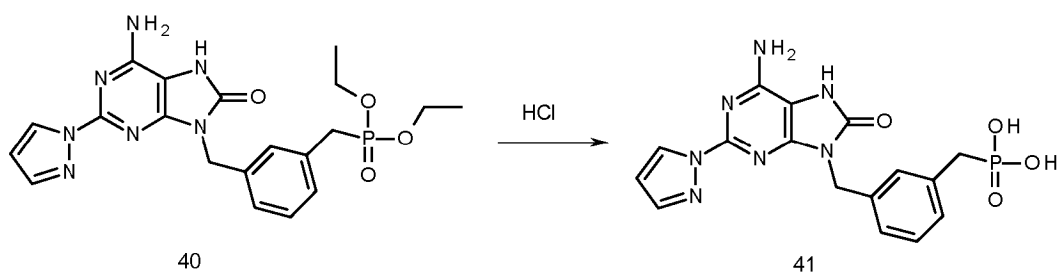


39 (45 мг, 133 мкмоль) растворяли в HBr (30% в AcOH) (10 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Растворитель выпаривали и AcOH отгоняли азеотропно с толуолом (дважды) с получением 75 мг промежуточного соединения P-2 в виде коричневого твердого вещества, которое применяли на следующем этапе без дополнительной очистки.

К суспензии NaH (53 мг, 1,33 ммоль) в ТГФ (4 мл) добавляли по каплям диэтилфосфит (0,130 мл, 1,33 ммоль) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. К смеси добавляли раствор P-2 (64 мг, 133 мкмоль) в ТГФ (4 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. К суспензии NaH (53 мг, 1,33 ммоль) в ТГФ (4 мл) добавляли по каплям диэтилфосфит (0,130 мл; 1,33 ммоль) при комнатной температуре. Полученную в результате смесь добавляли к реакционной смеси. Полученную в результате реакционную смесь

перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Добавляли воду и EtOAc, слои разделяли и промывали органический слой водным раствором NaHCO₃ и соевым раствором, сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 75 мг чистого масла. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ЖХ (SiOH с зерном неправильной формы 15–40 мкм, 25 г Merck, сухой ввод образца, градиент подвижной фазы: от CH₂Cl₂/MeOH 100/0 до 85/15) с получением 38 мг белого твердого вещества, которое растирали в пентане. Полученное в результате твердое вещество фильтровали и сушили в вакууме в течение 16 ч. при 50°C с получением 28 мг конечного соединения 40 в виде белого твердого вещества (выход 40%).

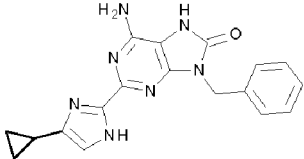
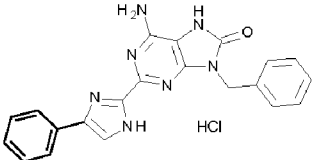
Синтез конечного соединения 41

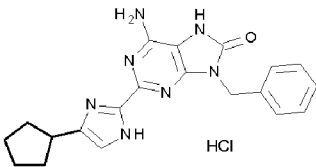
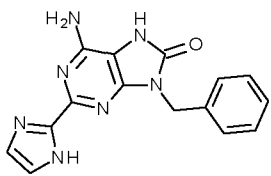


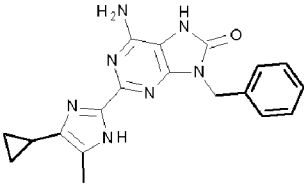
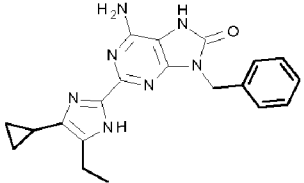
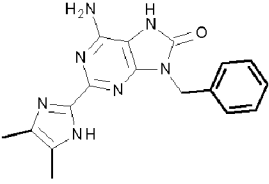
40 (590 мг, 1,29 ммоль) растворяли в HCl (37% в воде) (60 мл). Смесь перемешивали при 100°C в течение 16 ч. Растворитель выпаривали и H₂O азеотропно отгоняли с EtOH (дважды) с получением 605 мг конечного соединения 41 в виде белого твердого вещества (выход 100%).

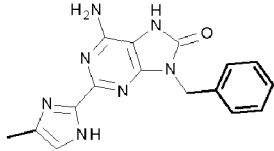
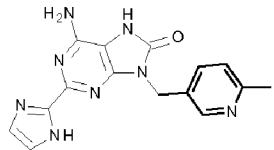
Таблица 1

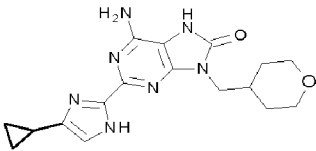
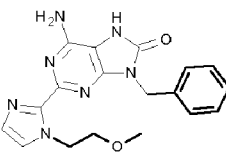
Соединение формулы (I)

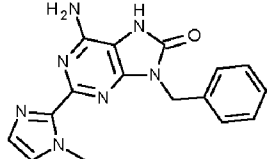
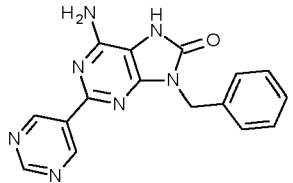
№	Структура	Масса, точное значение	Масса, найденное значение [M+H]	ЖХ-МС, время удерживания, способ	Способ синтеза	Т.пл. (°C)	¹ H-ЯМР
1		347,15	348	1,01, В	1,2		¹ H-ЯМР (600 МГц, ДМСО-d ₆) δ м.д. 0,84 (шир.с, 2H), 0,99 (д, J=6,7 Гц, 2H), 2,00 (шир.с, 1H), 3,16 (шир.с, 1H), 5,03 (шир.с, 2H), 7,08-7,21 (м, 2H), 7,24-7,35 (м, 3H), 7,36-7,45 (м, 3H), 11,51 (шир.с, 1H)
2		383,15	384	1,18, В	1		¹ H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d ₆) δ м.д. 5,08 (с, 2H), 7,04 (шир.с, 2H), 7,29 (м, J=7,3 Гц, 1H), 7,34 (т, J=7,3 Гц, 2H), 7,40-7,48 (м, 3H), 7,49-7,56 (м, 2H), 7,97 (д, J=7,3 Гц, 2H), 8,20 (с, 1H), 11,28 (с, 1H)

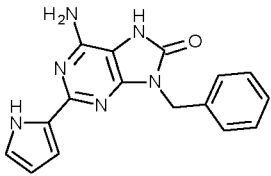
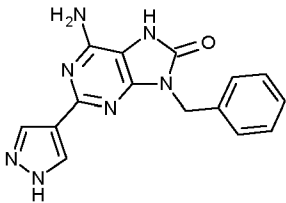
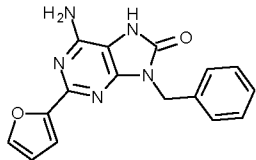
3		375,18	376		1	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 400 МГц): δ м.д. 14,45 (шир.с, 1H), 11,49 (с, 1H), 7,54 (с, 1H), 7,41 (д, J=8 Гц, 2H), 7,31 (т, J=8 Гц, 2H), 7,28 (т, J=8 Гц, 1H), 7,14 (шир.с, 2H), 5,06 (с, 2H), 3,15 (м, 1H), 2,08-2,06 (м, 2H), 1,74-1,62 (м, 6H)
4		307,12	308	1,87, V3018V3001	2	>260 ¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 400 МГц): δ м.д. 12,34 (шир.с, 1H), 10,32 (шир.с, 1H), 7,22-7,44 (м, 5H), 7,18 (с, 1H), 7,01 (с, 1H), 6,48 (шир.с, 2H), 5,00 (с, 2H)

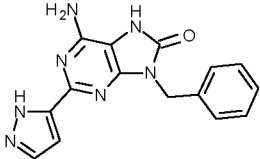
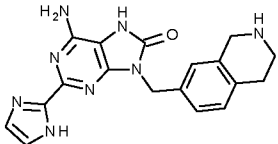
5		361,16	362	2,35, V3018V3001	3	>260	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ м.д. 11,89 (шир.с, 1H), 10,24 (шир.с, 1H), 7,21-7,40 (м, 5H), 6,51 (шир.с, 2H), 5,01 (с, 2H), 2,24 (с, 3H), 1,72-1,80 (м, 1H), 0,65-0,78 (м, 4H)
6		375,18	376	2,52, V3018V3001	3	>260	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ м.д. 11,85 (шир.с, 1H), 10,26 (с, 1H), 7,21-7,39 (м, 5H), 6,51 (шир.с, 2H), 5,02 (с, 2H), 2,65 (м, 2H), 1,78 (шир.с, 1H), 1,17 (т, J=6,5 Гц, 3H), 0,65-0,78 (м, 4H)
7		335,15	336	2,1, V3018V3001	3	230	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ м.д. 11,98 (шир.с, 1H), 10,27 (с, 1H), 7,20-7,40 (м, 5H), 6,40 (с, 2H), 5,01 (с, 2H), 2,10 (шир.с, 6H)

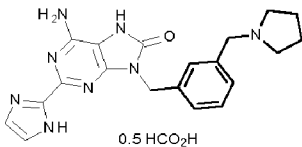
8		321,13	322	2,01, V3018V3001	3	^1H -ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6) δ м.д. 12,00-12,17 (м, 1H), 10,29 (с, 1H), 7,35-7,40 (м, 2H), 7,32 (т, $J=7,41$ Гц, 2H), 7,23-7,29 (м, 1H), 6,66-6,90 (м, 1H), 6,44 (шир.с, 2H), 5,00 (шир.с, 2H), 2,10-2,26 (м, 3H)
9		322,13	323	2,47, V3018V3001	4	^1H -ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ м.д. 10,38 (шир.с, 1H), 8,56 (шир.с, 1H), 7,71 (д, $J=7,07$ Гц, 1H), 7,09-7,30 (м, 4H), 6,45 (шир.с, 2H), 4,99 (с, 2H), 1,25 (шир.с, 3H)

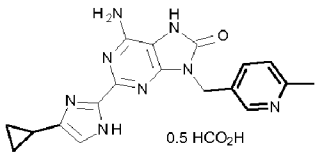
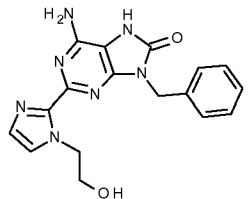
10		355,18	356	1,86, V3018V3001	4	>260	¹ H-ЯМР (500 МГц, MeOD) δ м.д. 6,83 (с, 1H), 3,95 (дд, J=2,84, 11,35 Гц, 2H), 3,87 (д, J=7,57 Гц, 2H), 3,36-3,44 (м, 2H), 2,25-2,37 (м, 1H), 1,89-1,98 (м, 1H), 1,60 (дд, J=1,89, 12,93 Гц, 2H), 1,41-1,52 (м, 2H), 0,88-0,96 (м, 2H), 0,71-0,77 (м, 2H).
11		365,16	366	2,11, V3018V3001	2	>260	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ м.д. 10,47 (шир.с, 1H), 7,22-7,38 (м, 5H), 7,20 (с, 1H), 6,91 (с, 1H), 6,62 (шир.с, 2H), 4,97 (с, 2H), 4,52 (т, J=5,4 Гц, 2H), 3,48 (т, J=5,4 Гц, 2H), 3,10 (с, 3H)

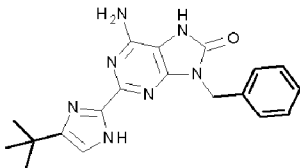
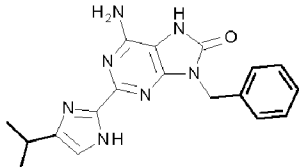
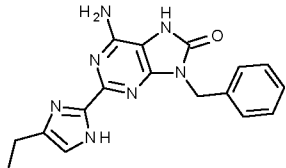
12		321,13	322	2,06, V3018V3001	2	>260	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ м.д. 7,16-7,33 (м, 5H), 7,10 (с, 1H), 6,84 (с, 1H), 6,24 (шир.с, 2H), 4,91 (с, 2H), 3,85 (с, 3H)
15		319,12	320	2,3, Villa	6		¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 300 МГц): δ м.д. 10,25 (шир.с, 1H), 9,47 (с, 2H), 9,23 (с, 1H), 7,40 (т, J=7,2 Гц, 2H), 7,34 (т, J=7,2 Гц, 2H), 7,27 (д, J=7,2 Гц, 1H) 670 (с, 2H), 5,75 (с, 1H), 5,02 (с, 2H)

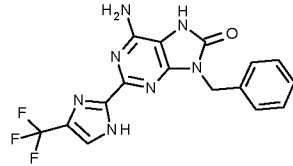
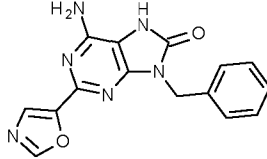
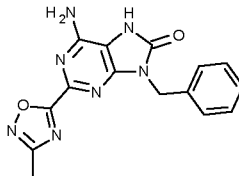
18		306,12	307	2,45, Villa	6	^1H -ЯМР (ДМСО- d_6 , 300 МГц): δ м.д. 11,10 (шир.с, 1H), 10,20 (шир.с, 1H), 7,43 (д, $J=7,1$ Гц, 2H), 7,33 (т, $J=7,1$ Гц, 2H), 7,26 (т, $J=7,1$ Гц, 1H), 6,83 (д, $J=1,5$ Гц, 1H), 6,68 (шир.с, 1H), 6,35 (с, 2H), 6,10 (д, $J=1,5$ Гц, 1H), 4,98 (с, 2H)
19		307,12	308	1,82, Villa	6	^1H -ЯМР (ДМСО- d_6 , 300 МГц): δ м.д. 12,97 (шир.с, 1H), 10,25 (шир.с, 1H), 8,02 (шир.с, 2H), 7,18-7,44 (м, 5H), 6,42 (с, 2H), 4,95 (с, 2H)
20		307,11	308	2,57, Villa	6	^1H -ЯМР (ДМСО- d_6 , 300 МГц): δ м.д. 10,60 (шир.с, 1H), 7,76 (шир.с, 1H), 7,19-7,40 (м, 5H), 7,00 (д, $J=3,3$ Гц, 1H), 6,66 (с, 2H), 6,59 (дд, $J=3,3$, 1,8 Гц, 1H), 5,0 (с, 2H)

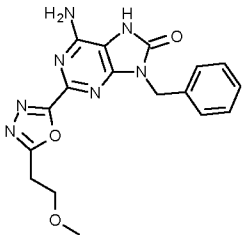
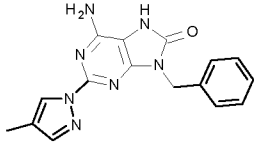
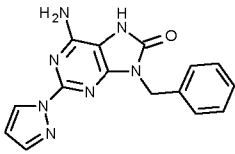
23		307,12	308	2,03, V3018V3001	5	>260	¹ H-ЯМР (500 МГц, ДМСО-d ₆) δ м.д. 12,84-13,37 (м, 1H), 10,30 (шир.с, 1H), 7,23-7,76 (м, 6H), 6,70 (шир.с, 1H), 6,49 (шир.с, 2H), 4,98 (с, 2H)
24		362,16	363	2,20 V3018V3001	4	240	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 400 МГц): δ м.д. 12,25 (шир.с, 1H), 7,18 (д, J=8,1 Гц, 1H), 6,99-7,14 (м, 4H), 6,50 (с, 2H), 4,94 (с, 2H), 3,93 (с, 2H), 3,01-3,07 (м, 2H), 2,72 (т, J=5,6 Гц, 2H)

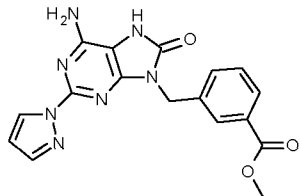
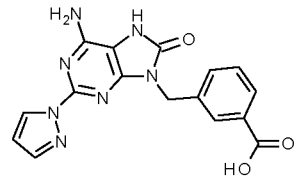
25	 0.5 HCO ₂ H	390,19	391	2,47 V3018V3001	4	196	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 400 МГц): δ м.д. 12,13 (шир.с, 1H), 10,38 (шир.с, 1H), 8,15 (шир.с, 0,49H, пик соли формиата), 7,39 (шир.с, 1H), 7,18- 7,34 (м, 3H), 7,09 (шир.с, 2H), 6,50 (шир.с, 2H), 5,01 (шир.с, 2H), 3,71 (шир.с, 2H), 2,50- 2,61 (м, 4H), 1,67 (шир.с, 4H)
----	---	--------	-----	--------------------	---	-----	--

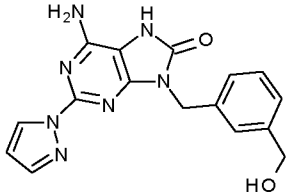
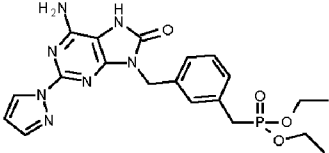
26	 <chem>Cc1cc(Cn2c3c(nc4c3nc(C5CC5)c4n2)C(=O)N5)ccn1.COC(=O)O</chem>	362,16	363	1,90 V3018V3001	4	>260	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 400 МГц): δ м.д. 12,05 (шир.с, 1H), 10,27 (с, 1H), 8,56 (д, J=1,8 Гц, 1H), 8,15 (с, 0,59H, пик соли формиата), 7,70 (дд, J=8,2, 1,8 Гц, 1H), 7,20 (д, J=8,2 Гц, 1H), 6,93 (шир.с, 1H), 6,49 (шир.с, 2H), 4,97 (с, 2H), 2,41 (с, 3H), 1,78-1,90 (м, 1H), 0,70-0,87 (м, 2H), 0,64-0,70 (м, 2H)
27	 <chem>Cc1cc(Cn2c3c(nc4c3nc(C5CCO)c4n2)C(=O)N5)ccn1</chem>	351,14	352	1,78 V3018V3001	2	260	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ м.д. 10,37 (с, 1H), 7,23-7,38 (м, 5H), 7,21 (д, J=0,9 Гц, 1H), 6,91 (д, J=0,9 Гц, 1H), 6,58 (шир.с, 2H), 4,96 (с, 2H), 4,81 (т, J=5,7 Гц, 1H), 4,41 (т, J=5,7 Гц, 2H), 3,59 (кв., J=5,7 Гц, 2H)

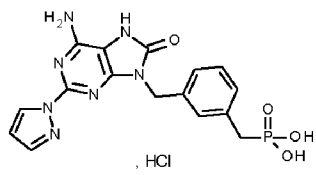
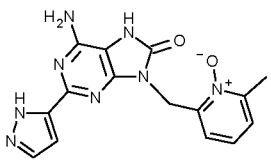
28		363,18	364	2,51 V3018V3001	2	>260	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ м.д. 11,78-12,24 (м, 1H), 10,28 (с, 1H), 7,07-7,47 (м, 5H), 6,21-6,93 (м, 3H), 5,01 (с, 2H), 1,13-1,45 (м, 9H)
29		349,17	350	2,35 V3018V3001	2	>260	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ м.д. 11,80-12,14 (м, 1H), 10,41 (шир.с, 1H), 7,06-7,70 (м, 5H), 6,65-6,89 (м, 1H), 6,37-6,62 (м, 2H), 4,89-5,21 (м, 2H), 2,73-3,16 (м, 1H), 1,04-1,31 (м, 6H)
30		335,15	336	2,18 V3018V3001	2	>260	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ м.д. 11,82-12,28 (м, 1H), 10,47 (шир.с, 1H), 7,08-7,56 (м, 5H), 6,63-7,01 (м, 1H), 6,38-6,59 (м, 2H), 4,78-5,07 (м, 2H), 2,53-2,69 (м, 2H), 0,95-1,35 (м, 3H)

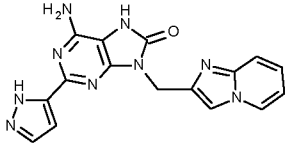
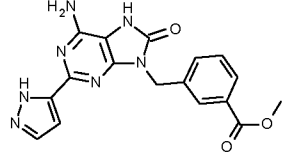
31		375,11	376	2,38 V3018V3001	2	>260	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ м.д. 13,07 (шир.с, 1H), 10,46 (шир.с, 1H), 7,83 (с, 1H), 7,39 (д, J=8,2 Гц, 2H), 7,32 (т, J=8,2 Гц, 2H), 7,26 (т, J=8,2 Гц, 1H), 6,65 (шир.с, 2H), 4,98 (с, 2H)
32		308,10	309	2,06 V3018V3001	5		¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ м.д. 10,44 (шир.с, 1H), 8,45 (с, 1H), 7,63 (с, 1H), 7,16-7,37 (м, 5H), 6,70 (шир.с, 2H), 4,96 (с, 2H)
33		323,11	324	2,23 V3018V3001	5	>250	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ м.д. 10,72 (шир.с, 1H), 7,11-7,56 (м, 5H), 6,94 (шир.с, 2H), 5,00 (шир.с, 2H), 2,41 (с, 3H)

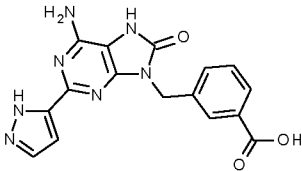
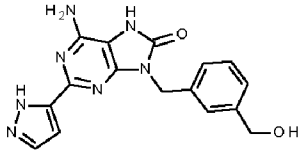
34		367,14	368	2,27 V3018V3001	5	>250	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ м.д. 10,71 (шир.с, 1H), 7,16-7,49 (м, 5H), 6,96 (шир.с, 2H), 5,01 (с, 2H), 3,72 (т, J=6,3 Гц, 2H), 3,24 (с, 3H), 3,01 (т, J=6,3 Гц, 2H)
35		321,13	322	2,42 V3018V3001	7	>260	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ м.д. 10,31 (шир.с, 1H), 8,24 (с, 1H), 7,51 (с, 1H), 7,18-7,40 (м, 5H), 6,78 (шир.с, 2H), 4,96 (с, 2H), 2,08 (с, 3H)
36		307,12	308	2,25 V3018V3001	7	>260	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ м.д. 10,33 (шир.с, 1H), 8,46 (д, J=2,5 Гц, 1H), 7,70 (с, 1H), 7,20-7,40 (м, 5H), 6,82 (шир.с, 2H), 6,48 (д, J=3,8 Гц, 1H), 4,97 (с, 2H)

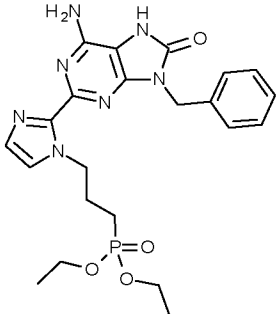
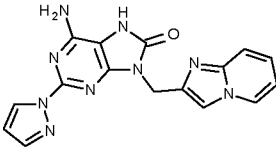
37		365,12	366	2,24 V3018V3001	8	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 400 МГц): δ (м.д.) 9,80 (шир.с, 1H), 8,47 (д, J=2,5 Гц, 1H), 7,99 (с, 1H), 7,87 (д, J=7,6 Гц, 1H), 7,70 (с, 1H), 7,65 (д, J=7,6 Гц, 1H), 7,50 (т, J=7,6 Гц, 1H), 6,84 (шир.с, 2H), 6,43-6,63 (м, 1H), 5,04 (с, 2H), 3,83 (с, 3H)
38		351,11	352	2,27 V3014V3001	8	332 ¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 400 МГц): δ (м.д.) 13,01 (шир.с, 1H), 10,46 (шир.с, 1H), 8,47 (с, 1H), 7,95 (с, 1H), 7,84 (д, J=7,6 Гц, 1H), 7,69 (с, 1H), 7,60 (д, J=7,6 Гц, 1H), 7,46 (т, J=7,6 Гц, 1H), 6,87 (шир.с, 2H), 6,48 (с, 1H), 5,03 (с, 2H)

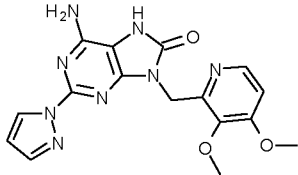
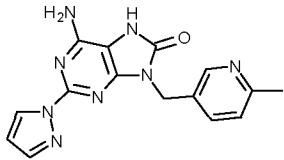
39		337,13	338	1,87 V3018V3001	8	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ (м.д.) 10,28 (шир.с, 1H), 8,46 (с, 1H), 7,70 (с, 1H), 7,10-7,37 (м, 4H), 6,82 (шир.с, 2H), 6,35-6,57 (м, 1H), 5,17 (т, J=5,7 Гц, 1H), 4,96 (с, 2H), 4,45 (д, J=5,7 Гц, 2H)
40		457,16	458	2,13 V3018V3001	8	218 ¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ (м.д.) 10,41 (шир.с, 1H), 8,46 (шир.с, 1H), 7,69 (с, 1H), 7,04-7,38 (м, 4H), 6,85 (шир.с, 2H), 6,47 (шир.с, 1H), 4,95 (шир.с, 2H), 3,85 (квинтет, J=7,0 Гц, 4H), 3,18 (д, J=21,4 Гц, 2H), 1,06 (т, J=7,0 Гц, 6H)

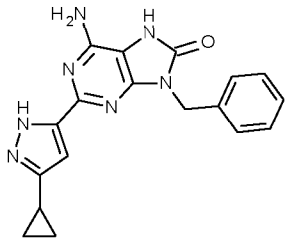
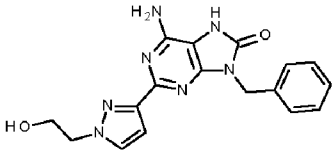
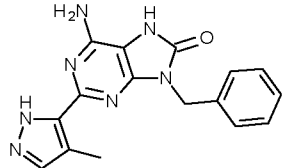
41	 <chem>Nc1nc2c(ncn2C(=O)N1Cc3ccc(COP(=O)(O)O)cc3)[nH]4ccccc4</chem> , HCl	401,10	402	5,40 V2012V2002	8	101	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 400 МГц): δ (м.д.) 10,43 (с, 1H), 8,46 (д, J=2,5 Гц, 1H), 7,69 (с, 1H), 7,10-7,31 (м, 4H), 6,84 (шир.с, 2H), 6,47 (дд, J=2,5, 1,5 Гц, 1H), 6,29 (шир.с, 2H), 4,90 (с, 2H), 2,92 (д, J=21,2 Гц, 2H)
42	 <chem>Cc1ccc(cc1)[N+]([O-])Cc2nc3c(ncn3C(=O)N2Cc4ccccc4)[nH]5ccccc5</chem>	338,12	339	2,45 V3014V3001	7		¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ (м.д.) 10,20 (шир.с, 1H), 8,37 (д, J=2,2 Гц, 1H), 7,65 (с, 1H), 7,48 (д, J=6,9 Гц, 1H), 7,19 (т, J=6,9 Гц, 1H), 6,82-7,00 (м, 3H), 6,44 (дд, J=2,4, 1,7 Гц, 1H), 4,95-5,14 (м, 2H), 2,43 (с, 3H)

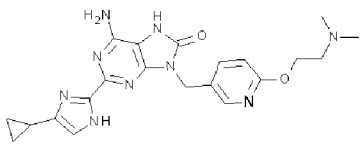
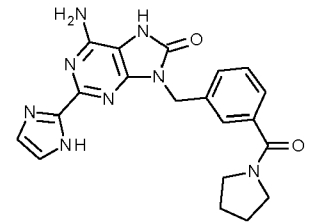
43		347,12	348	2,54 V3014V3001	7	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 400 МГц): δ (м.д.) 12,48-13,42 (м, 1H), 9,90-10,57 (м, 1H), 8,44 (д, J=9,1 Гц, 1H), 7,37-7,99 (м, 3H), 7,19 (т, J=9,1 Гц, 1H), 6,83 (т, J=9,1 Гц, 1H), 6,69 (шир.с, 1H), 6,47 (шир.с, 2H), 5,12 (шир.с, 2H)
44		365,12	366	3,05 V3014V3001	7	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 400 МГц): δ (м.д.) 12,32-13,87 (м, 1H), 9,94-10,53 (м, 1H), 7,4-8,26 (м, 5H), 6,61-6,89 (м, 1H), 6,28-6,59 (м, 2H), 5,05 (с, 2H), 3,83 (с, 3H)

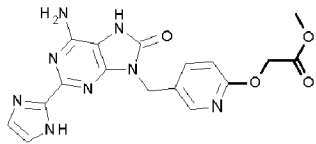
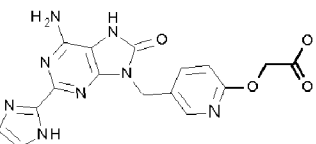
45		351,11	352	2,13 V3014V3001	7	^1H -ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц): δ (м.д.) 13,06 (шир.с, 2H), 10,32 (шир.с, 1H), 7,97 (с, 1H), 7,83 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 7,69 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 7,57 (шир.с, 1H), 7,46 (т, $J=7,6$ Гц, 1H), 6,72 (д, $J=1,5$ Гц, 1H), 6,48 (с, 2H), 5,04 (с, 2H)
46		337,13	338	1,63 V3018V3001	7	>260 ^1H -ЯМР (ДМСО- d_6 , 500 МГц): δ (м.д.) 12,48-13,52 (м, 1H), 9,83-10,74 (м, 1H), 7,01-7,98 (м, 5H), 6,22-6,84 (м, 3H), 5,17 (т, $J=5,7$ Гц, 1H), 4,97 (с, 2H), 4,44 (д, $J=5,7$ Гц, 2H)

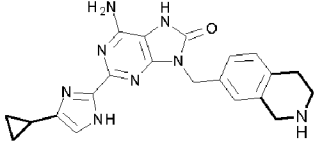
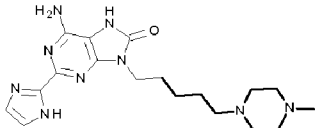
47		485,19	486	2,11 V3018V3001	2	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 400 МГц): δ (м.д.) 10,45 (с, 1H), 7,13-7,54 (м, 6H), 6,94 (с, 1H), 6,62 (шир.с, 2H), 4,98 (с, 2H), 4,33-4,48 (м, 2H), 3,82-4,02 (м, 4H), 1,76-1,92 (м, 2H), 1,47-1,66 (м, 2H), 1,15 (т, J=6,8 Гц, 6H)
48		347,12	348	1,81 V3018V3001	8	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 400 МГц): δ (м.д.) 10,35 (шир.с, 1H), 8,27-8,53 (м, 2H), 7,77 (с, 1H), 7,67 (с, 1H), 7,47 (д, J=9,1 Гц, 1H), 7,15-7,27 (м, 1H), 6,76-6,88 (м, 3H), 6,36-6,53 (м, 1H), 5,09 (с, 2H)

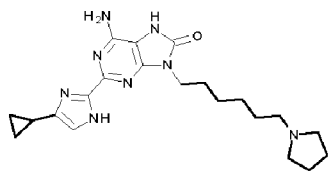
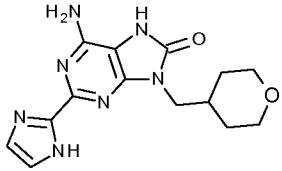
49		368,13	369	1,94 V3018V3001	8	>260	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ (м.д.) 9,42-10,55 (м, 1H), 8,35 (д, J=2,5 Гц, 1H), 8,01 (д, J=5,4 Гц, 1H), 7,65 (с, 1H), 7,02 (д, J=5,4 Гц, 1H), 6,80 (шир.с, 2H), 6,36-6,55 (м, 1H), 5,07 (с, 2H), 3,81-3,96 (м, 6H)
50		322,13	323	2,78 V3014V3001	8	>260	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ (м.д.) 10,31 (шир.с, 1H), 8,49 (д, J=8,5 Гц, 2H), 7,71 (с, 1H), 7,65 (д, J=7,6 Гц, 1H), 7,21 (д, J=7,6 Гц, 1H), 6,82 (шир.с, 2H), 6,50 (шир.с, 1H), 4,95 (с, 2H), 2,39 (с, 3H)

51		347,15	348	2,35 V3018V3001	7	>260	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ (м.д.) 12,36-12,99 (м, 1H), 10,33 (шир.с, 1H), 6,94-7,75 (м, 5H), 5,99-6,73 (м, 3H), 4,97 (с, 2H), 1,81-1,97 (м, 1H), 0,54-1,02 (м, 4H)
52		351,14	352	1,93 V3018V3001	7		¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 400 МГц): δ (м.д.) 10,23 (шир.с, 1H), 7,68 (д, J=2,0 Гц, 1H), 7,15-7,40 (м, 5H), 6,72 (д, J=2,0 Гц, 1H), 6,46 (с, 2H), 4,97 (с, 2H), 4,87 (т, J=5,1 Гц, 1H), 4,17 (т, J=5,1 Гц, 2H), 3,75 (кв., J=5,1 Гц, 2H)
53		321,13	322	2,26 V3018V3001	7	192	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ (м.д.) 12,94 (шир.с, 1H), 10,28 (с, 1H), 7,17-7,49 (м, 6H), 6,41 (шир.с, 2H), 4,97 (с, 2H), 2,28-2,39 (м, 3H)

54		435,21	436	1,32 V3018V3001	2	211	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ (м.д.) 11,90-12,42 (м, 1H), 10,14 (шир.с, 1H), 7,85-8,01 (м, 1H), 7,35-7,56 (м, 1H), 6,21-7,07 (м, 4H), 4,65-4,77 (м, 2H), 3,86-3,94 (м, 2H), 2,38-2,44 (м, 2H), 2,04 (с, 6H), 1,77-1,89 (м, 1H), 0,60-0,92 (м, 4H)
55		404,17	405	2,80 V3014V3001	2	218	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 400 МГц): δ (м.д.) 12,52 (шир.с, 1H), 10,32 (с, 1H), 7,59 (с, 1H), 7,46-7,51 (м, 1H), 7,34-7,45 (м, 2H), 7,12 (шир.с, 2H), 6,49 (с, 2H), 4,94-5,25 (м, 2H), 3,41 (т, J=7,1 Гц, 2H), 3,20-3,29 (м, 2H), 1,79 (квинтет, J=7,1 Гц, 2H), 1,64 (квинтет, J=7,1 Гц, 2H)

57		396,13	397	1,79 V3018V3001	2	>260	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ (м.д.) 12,47 (шир.с, 1H), 10,30 (шир.с, 1H), 8,25 (шир.с, 1H), 7,84 (д, J=8,2 Гц, 1H), 7,13 (шир.с, 2H), 6,90 (д, J=8,2 Гц, 1H), 6,50 (шир.с, 2H), 4,94 (шир.с, 2H), 4,87 (шир.с, 2H), 3,63 (с, 3H)
58		382,11	383	2,00 V3014V3001	2	>260	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ (м.д.) 11,87-13,45 (м, 2H), 10,50 (шир.с, 1H), 8,27 (шир.с, 1H), 7,83 (д, J=7,6 Гц, 1H), 7,22 (шир.с, 2H), 6,86 (д, J=7,6 Гц, 1H), 6,61 (шир.с, 2H), 4,94 (шир.с, 2H), 4,77 (шир.с, 2H)

60		402,19	403	2,61 V3014V3001	2	242	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 400 МГц): δ (м.д.) 8,98-12,14 (м, 1H), 8,21 (с, 1H), 6,04-7,47 (м, 6H), 4,95 (шир.с, 2H), 4,02 (шир.с, 2H), 3,13 (шир.с, 2H), 2,79 (шир.с, 2H), 1,67-1,97 (м, 1H), 0,42-0,94 (м, 4H)
61		385,23	386	2,14 V3014V3001	2		¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 400 МГц): δ (м.д.) 11,85 (шир.с, 1H), 10,32 (с, 1H), 7,09 (с, 2H), 6,46 (с, 2H), 3,81 (т, J=7,2 Гц, 2H), 2,30-2,48 (м, 10H), 2,27 (с, 3H), 1,74 (квинтет, J=7,2 Гц, 2H), 1,49 (квинтет, J=7,2 Гц, 2H), 1,20-1,36 (м, 2H)

62		410,25	411	1,67 V3018V3001	2	174	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 500 МГц): δ (м.д.) 11,91 (шир.с, 1H), 10,29 (шир.с, 1H), 6,84 (шир.с, 1H), 6,49 (шир.с, 2H), 3,79 (т, J=6,9 Гц, 2H), 2,52-2,70 (м, 6H), 1,80-1,90 (м, 1H), 1,71 (шир.с, 5H), 1,39-1,52 (м, 2H), 1,17-1,38 (м, 5H), 0,51-0,91 (м, 4H)
63		315,14	316	2,37 V3014V3001	2	>260	¹ H-ЯМР (ДМСО-d ₆ , 400 МГц): δ (м.д.) 12,35 (шир.с, 1H), 10,24 (шир.с, 1H), 7,11 (шир.с, 2H), 6,44 (с, 2H), 3,78-3,87 (м, 2H), 3,70 (д, J=7,1 Гц, 2H), 3,24 (т, J=10,9 Гц, 2H), 1,99-2,18 (м, 1H), 1,08-1,76 (м, 4H)

Аналитические методики

Все соединения исследовали посредством ЖХ-МС. Применяли следующие методики ЖХ-МС.

Способ VILLA

Все анализы проводили с применением квадрупольного ЖХ/MSD серий Agilent 1100, соединенного с системой для жидкостной хроматографии (ЖХ) серий Agilent 1100, состоящей из насоса для двухкомпонентных смесей с дегазатором, автоматического устройства подготовки и отбора проб, термостатированной колонки, детектора на диодной матрице. Масс-спектрометр (МС) применяли с источником электрораспылительной ионизации при атмосферном давлении (API-ES). Капиллярное напряжение устанавливали на 3000 В, напряжение фрагментатора до 70 В и температуру квадрупольного полюса поддерживали при 100°C. Значения потока и температуры сушильного газа составляли 12,0 л/мин. и 350°C, соответственно. Азот применяли в качестве газа-распылителя при давлении 35 фунтов/кв.дюйм (241,3 кПа) изб. Сбор данных проводили с помощью программного обеспечения Agilent Chemstation.

В дополнение к общей методике анализа осуществляли на колонке YMC pack ODS-AQ C18 (длиной 50 мм × внутр. диам. 4,6 мм; размером частиц 3 мкм) при 35°C со скоростью потока 2,6 мл/мин. Градиентное элюирование проводили от 95% (вода + 0,1% муравьиная кислота)/5% ацетонитрил до 5% (вода + 0,1% муравьиная кислота)/95% ацетонитрил за 4,80 минуты, конечную композицию подвижной фазы удерживали дополнительно в течение 1,00 мин. Стандартный объем вводимой пробы составлял 2 мкл. Диапазоны измерений устанавливали на 190-400 нм для UV-PDA-детектора и 100-1400 масса/заряд для МС-детектора.

Способ В система ACQUITY UPLC с SQD-детектором

Подвижная фаза: А: метанол, В: 10 мМ ацетат аммония в 90% воды и 10% ацетонитрил.

Колонка: тип колонки: колонка Aquity UPLC VEN C18 1,7 мкм 2,1×50 мм (Waters № 186002350), температура: 70°C. Программа градиента. Поток: 0,7 мл/мин., остановка сбора данных: 1,8 мин. Время остановки: 2 мин.

Время (мин.)	% А	% В	Скорость потока (мл/мин.)
0,00	5	95	0,7
1,30	95	5	0,7
1,50	95	5	0,7
1,70	5	95	0,7
2,00	5	95	0,7

Объем вводимой пробы: 0,75 мкл. Тип ввода пробы: неполная петля с переполнением иглы.

Начальная длина волны: 210 нм. Конечная длина волны: 400 нм. Разрешающая способность: 1,2 нм. Частота ввода проб: 20 точек/с.

МС-способ

Функция 1

Режим ионизации: ES+. Формат данных: центроид.

Начальная масса: 160. Конечная масса: 1000.

Время сканирования (с): 0,1. Время начала (мин.): 0,0. Время завершения (мин.): 2,0. Напряжение на конусе (В): 30.

Функция 2

Режим ионизации: ES-. Формат данных: центроид. Начальная масса: 160. Конечная масса: 1000.

Время сканирования (с): 0,1. Время начала (мин.): 0,0. Время завершения (мин.): 2,0. Напряжение на конусе (V): 30. Поток в МС: 700 мкл/мин.

Общая процедура VDR1 (для методик V100xV10xx.olp и V200xV20xx.olp)

ВЭЖХ измерения осуществляли с применением системы Alliance HT 2795 (Waters), состоящей из насоса для четырехкомпонентных смесей с дегазатором, автоматического устройства подготовки и ввода пробы, диодно-матричного детектора (DAD) и колонки, как указано в соответствующих способах ниже, колонку поддерживают при температуре 30°C. Поток из колонки разделяли к МС-спектрометру. МС-детектор оснащали источником ионизации электрораспылением. Напряжение капиллярной иглы составляло 3 кВ, а температуру источника поддерживали на уровне 100°C на LCT (временнóлетный масс-спектрометр с интерфейсом Zspray™ от

Waters – для методик V100xV10xx.olp), и 3,15 кВ при 110°C на ZQ™ (простой квадрупольный масс-спектрометр с интерфейсом Zspray™ от Waters – для методик V200xV20xx.olp). Азот применяли в качестве распылительного газа. Сбор данных проводили с помощью системы обработки данных Waters-Micromass MassLynx-Openlynx.

Общая процедура VDR2 (для методик V300xV30xx.olp)

Измерение с помощью ЖХ проводили с применением системы для UPLC (сверхэффективной жидкостной хроматографии) Acquity (Waters), состоящей из насоса для двухкомпонентных смесей с дегазатором, автоматического дозатора, диодно-матричного детектора (DAD) и колонки, как определено в соответствующих способах ниже, причем колонку выдерживали при температуре 40°C. Поток из колонки разделяли к МС-детектору. МС-детектор оснащали источником ионизации электрораспылением. Напряжение капиллярной иглы составляло 3 кВ, и температуру в Quattro (тройном квадрупольном масс-спектрометре от Waters) поддерживали при 130°C. Азот применяли в качестве распылительного газа. Сбор данных проводили с помощью системы обработки данных Waters-Micromass MassLynx-Openlynx.

Способ V1005V1012

В дополнение к общей методике VDR1: обращенно-фазовую ВЭЖХ выполняли на колонке Waters X-bridge (3,5 мкм, 4,6×100 мм) со скоростью потока 0,8 мл/мин. Две подвижные фазы (подвижная фаза А: 100% 7 мМ ацетат аммония; подвижная фаза В: 100% ацетонитрил) применяли для соблюдения условия градиента от 80% А до 20% В (удерживание в течение 0,5 минуты) до 90% В за 4,5 минуты, 90% В в течение 4 минут, и повторное уравнивание при исходных условиях в течение 3 минут. Применяли объем вводимой пробы 5 мкл. Напряжение на конусе составляло 20 В для режима положительной и отрицательной ионизации. Масс-спектры получали сканированием от 100 до 1000 за 0,4 секунды с применением времени задержки 0,3 секунды между сканированиями.

Способ V1004V1012

В дополнение к общей методике VDR1: обращенно-фазовую ВЭЖХ

выполняли на колонке Kromasil C18 (3,5 мкм, 4,6×100 мм) со скоростью потока 0,85 мл/мин. Три подвижные фазы (подвижная фаза А: 100% 7 мМ ацетат аммония; подвижная фаза В: 100% ацетонитрил; подвижная фаза С: 0,2% муравьиной кислоты + 99,8% воды сверхвысокой очистки) применяли для соблюдения условия градиента от 35% А, 30% В и 35% С (удерживание в течение 1 минуты) до 100% В за 3 минуты, 100% В в течение 4,5 минуты и повторно с исходными условиями в течение 3 минут. Применяли объем вводимой пробы 5 мкл. Напряжение на конусе составляло 20 В для режима положительной и отрицательной ионизации. Масс-спектры получали сканированием от 100 до 1000 за 0,4 секунды с применением времени задержки 0,3 секунды между сканированиями.

Способ V1010V1012

В дополнение к общей методике VDR1: обращенно-фазовую ВЭЖХ выполняли на колонке Waters Atlantis C18 (5 мкм, 3,9×100 мм) со скоростью потока 0,8 мл/мин. Три подвижные фазы (подвижная фаза А: 100% 7 мМ ацетата аммония; подвижная фаза В: 100% ацетонитрил; подвижная фаза С: 0,2% муравьиной кислоты + 99,8% воды сверхвысокой очистки) применяли для соблюдения условия градиента от 50% А и 50% С (удерживание в течение 1,5 минуты) до 10% А, 80% В и 10% С за 4,5 минуты, удерживание 4 минуты, и повторное уравнивание с исходными условиями в течение 3 минут. Применяли объем вводимой пробы 5 мкл. Напряжение на конусе составляло 20 В для режима положительной и отрицательной ионизации. Масс-спектры получали сканированием от 100 до 1000 за 0,4 секунды с применением времени задержки 0,3 секунды между сканированиями.

Способ V2002V2002+LCpos court.olp

В дополнение к общей методике VDR1: обращенно-фазовую ВЭЖХ выполняли на колонке Kromasil C18 (3,5 мкм, 4,6×100 мм) со скоростью потока 0,8 мл/мин. Три подвижные фазы (подвижная фаза А: 100% 7 мМ ацетат аммония; подвижная фаза В: 100% ацетонитрил; подвижная фаза С: 0,2% муравьиной кислоты + 99,8% воды сверхвысокой очистки) применяли для соблюдения условия градиента от 35% А, 30% В и 35% С (удерживание в течение 1 минуты) до 100% В за 4 минуты, 100% В в течение 4 минут и

повторно уравнивали с исходными условиями в течение 2 минут. Применяли объем вводимой пробы 10 мкл. Напряжение на конусе составляло 20 В для режима положительной и отрицательной ионизации. Масс-спектры получали сканированием от 100 до 1000 за 0,4 секунды с применением времени задержки 0,3 секунды между сканированиями.

Способ V2003V2002

В дополнение к общей методике VDR1: обращенно-фазовую ВЭЖХ выполняли на колонке X-Bridge C18 (3,5 мкм, 4,6×100 мм) со скоростью потока 0,8 мл/мин. Две подвижные фазы (подвижная фаза А: 100% 7 мМ ацетат аммония; подвижная фаза В: 100% ацетонитрил); применяли для соблюдения условия градиента от 80% А, 20% В (удерживание в течение 0,5 минуты) до 10% А, 90% В в течение 4,5 минут, удерживание при 10% А и 90% В в течение 4 минут и повторно уравнивали с исходными условиями в течение 3 минут. Применяли объем вводимой пробы 10 мкл. Напряжение на конусе составляло 20 В для режима положительной и отрицательной ионизации. Масс-спектры получали сканированием от 100 до 1000 за 0,4 секунды с применением времени задержки 0,3 секунды между сканированиями.

Способ V2012V2002

В дополнение к общей методике VDR1: обращенно-фазовую ВЭЖХ выполняли на колонке Waters Atlantis C18 (5 мкм, 3,9×100 мм) со скоростью потока 0,8 мл/мин. Три подвижные фазы (подвижная фаза А: 100% 7 мМ ацетат аммония; подвижная фаза В: 100% ацетонитрил; подвижная фаза С: 0,2% муравьиной кислоты + 99,8% воды сверхвысокой очистки) применяли для соблюдения условия градиента от 50% А, 0% В и 50% С (удерживание в течение 1,5 минут) до 10% А, 80% В и 10% С в течение 3,5 минут, удерживали при данных условиях в течение 4 минут и повторно уравнивали с исходными условиями в течение 3 минут. Применяли объем вводимой пробы 10 мкл. Напряжение на конусе составляло 20 В для режима положительной и отрицательной ионизации. Масс-спектры получали сканированием от 100 до 1000 за 0,4 секунды с применением времени задержки 0,3 секунды между сканированиями.

Способ V2015V2007

В дополнение к общей методике VDR1: обращенно-фазовую ВЭЖХ выполняли на колонке Supelco Ascentis Express C18 (2,7 мкм, 3,0×100 мм) со скоростью потока 0,7 мл/мин. Две подвижные фазы (подвижная фаза А: 100% 7 мМ ацетат аммония; подвижная фаза В: 100% ацетонитрил) применяли для соблюдения условия градиента от 80% А и 20% В (удерживание в течение 0,5 минуты) до 5% А и 95% В в течение 2,5 минут, удерживали в течение 4,5 минут и возвращали к исходным условиям в течение 1,5 минуты, и удерживали в течение 1 мин. Применяли объем вводимой пробы 5 мл. Напряжение на конусе составляло 20 В для режима положительной и отрицательной ионизации. Масс-спектры получали сканированием от 100 до 1000 за 0,4 секунды с применением времени задержки 0,3 секунды между сканированиями.

Способ V3018V3001

В дополнение к общей методике VDR2: обращенно-фазовую UPLC проводили на колонке Waters Acquity BEH (мостиковый гибридный этилсилоксан/силикагель) C18 (1,7 мкм, 2,1×100 мм) со скоростью потока 0,343 мл/мин. Две подвижные фазы (подвижная фаза А: 95% 7 мМ ацетат аммония/5% ацетонитрил; подвижная фаза В: 100% ацетонитрил) применяли для осуществления условия градиента от 84,2% А и 15,8% В (удерживание в течение 0,49 минуты) до 10,5% А и 89,5% В, удерживали в течение 2,18 минуты и приводили к начальным условиям в течение 0,73 мин., удерживали в течение 0,73 минуты. Применяли объем вводимой пробы 2 мкл. Напряжение на конусе составляло 20 В для режима положительной и отрицательной ионизации. Масс-спектры получали сканированием от 100 до 1000 за 0,2 секунды с применением времени задержки 0,1 секунды между сканированиями.

Способ V3014V3001

В дополнение к общей методике VDR2: обращенно-фазовую ВЭЖХ выполняли на колонке Т3 с HSS (высокопрочный диоксид кремния) от Waters (1,8 мкм, 2,1×100 мм) со скоростью потока 0,35 мл/мин. Две подвижные фазы (подвижная фаза А: 95% 7 мМ ацетат аммония/5% ацетонитрил; подвижная фаза В: 100% ацетонитрил) применяли для осуществления условия градиента от 99% А

(удерживание в течение 0,5 минуты) до 15% А и 85% В в течение 4,5 минут, удерживали в течение 2 мин. и приводили к начальным условиям в течение 0,5 мин., удерживали в течение 1,5 минуты. Применяли объем вводимой пробы 2 мкл. Напряжение на конусе составляло 20 В для режима положительной и отрицательной ионизации. Масс-спектры получали сканированием от 100 до 1000 за 0,2 секунды с применением времени задержки 0,1 секунды между сканированиями.

Биологическая активность соединений формулы (I)

Описание анализов биологической активности

Анализы с помощью репортерного гена для оценки активности TLR7 (24 ч.)

Способность соединений активировать TLR7 человека оценивали с помощью клеточного анализа с применением репортерного гена с применением клеток HEK293, временно трансфицированных посредством экспрессирующего вектора TLR7 или TLR8 и репортерного конструкта NFB-luc. В одном случае конструкт экспрессии TLR экспрессирует соответствующую последовательность дикого типа или мутантную последовательность, содержащую делецию во втором богатом лейцином повторе (d1RR2) TLR. Как ранее указывалось, такие мутантные белки TLR более восприимчивы к активации агонистом (документ US 7498409).

Кратко, клетки HEK293 выращивали в среде для культивирования (DMEM, дополненная 10%).

FCS и 2 mM глутамин). Для трансфекции клеток в 10 см чашках клетки отделяли трипсином-EDTA, трансфицировали смесью из плазмиды CMV-TLR7 или плазмиды TLR8 (750 нг), плазмиды NFB-luc (375 нг) и реагента для трансфекции и инкубировали 24 часа или 48 часов при 37°C в увлажненной атмосфере 5% CO₂. Трансфицированные клетки затем отделяли трипсином-ЭДТА, промывали в PBS и ресуспендировали в среде до плотности $1,67 \times 10^5$ клеток/мл. Тридцать микролитров клеток затем распределяли в каждую лунку в 384-луночных планшетах, где уже содержалось 10 мкл соединения в 4% ДМСО. После 6 часов инкубации при 37°C, 5% CO₂ определяли люциферазную активность

путем добавления 15 мкл субстрата Steady Lite Plus (Perkin Elmer) в каждую лунку и считывали показания, полученные на устройстве для считывания микропланшетов ViewLux ultraNTS (Perkin Elmer). Кривые доза-эффект были составлены исходя из измерений, выполненных в четырех параллельных анализах. Для каждого соединения определяли значения самых низких эффективных концентраций (LEC), определенных как концентрация, которая индуцирует эффект, который по меньшей мере в два раза выше допустимого отклонения анализа. Токсичность соединения определяли одновременно с применением одинаковых серий разбавления соединения – 30 мкл на лунку с клетками, трансфицированными только конструктом CMV-TLR7 ($1,67 \times 10^5$ клеток/мл), в 384-луночных планшетах. Жизнеспособность клеток измеряли после 6 часов инкубации при 37°C, 5% CO₂ посредством добавления 15 мкл ATP lite (Perkin Elmer) на лунку и считывания показаний с устройством для считывания микропланшетов ViewLux ultraNTS (Perkin Elmer). Данные указывали как CC₅₀.

Анализ продуцирования интерферона в клетках человека PBMC (PBMC-HUH7 EC₅₀)

Активация TLR7 человека приводит к усиленному продуцированию интерферона плазмацитоидными дендритными клетками, присутствующими в крови человека. Способность соединения индуцировать выработку интерферона оценивали посредством изучения противовирусной активности в системе репликона HCV после инкубации в присутствии кондиционированных сред из мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC). Анализ репликона HCV основан на конструкте бицистронной экспрессии, как описано у Lohmann et al. (Science (1999) 285: 110-113; Journal of Virology (2003) 77: 3007-15 3019) с модификациями, описанными Krieger et al (Journal of Virology (2001) 75: 4614-4624). При анализе применяли стабильно трансфицированную клеточную линию Huh-7 luc/neo, содержащую РНК, кодирующую бицистронный конструкт экспрессии, содержащий участки дикого типа NS3-NS5B типа 1b HCV, транслируемые на участке внутренней посадки рибосомы (IRES) у вируса энцефаломиокардита (EMCV), при этом предварительно вводили

репортерный ген (люцифераза светлячка) и селективный маркерный ген (neoR, неомycin-фосфотрансфераза). Конструкт фланкирован 5' и 3' NTR (нетранслируемые участки) из HCV типа 1b. Непрерывное культивирование клеток с репликонами в присутствии G418 (neoR) зависит от репликации РНК HCV. Для анализа кондиционированных сред клеточной культуры применяли стабильно трансфицированные клетки с репликонами, которые автономно и интенсивно реплицируют РНК HCV, кодирующую *inter alia* люциферазу. Кратко, РВМС получали из лейкоцитарных пленок от по меньшей мере двух доноров с применением стандартного протокола центрифугирования с фиколлом. Выделенные РВМС ресуспендировали в среде RPMI, дополненной 10% сывороткой АВ человека, и 2×10^5 клеток/на лунку распределяли в 384-луночных планшетах, содержащих соединения (общий объем 70 мкл). После инкубации в течение ночи 10 мкл надосадочной жидкости переносили в 384-луночные планшеты, содержащие $2,2 \times 10^3$ клеток с репликонами/на лунку в 30 мкл (помещенные в планшеты за день до этого). После 24 часов инкубации репликацию определяли посредством анализа люциферазной активности с применением 40 мкл/на лунку субстрата Steady Lite Plus (Perkin Elmer) и измеряли посредством микропланшетного ридера с возможностью визуализации ViewLux ultraNTS (Perkin Elmer). Ингибирующую активность каждого соединения в отношении клеток Huh7-luc/neo записывали в виде величин EC_{50} , определенных как концентрация соединения, нанесенного на РВМС, которая привела к снижению люциферазной активности на 50%, что в свою очередь свидетельствует о степени репликации РНК – репликона при переносе определенного количества среды для культивирования РВМС. Рекомбинантный интерферон α -2a (Roferon-A) применяли в качестве стандартного контрольного соединения. Все соединения продемонстрировали $CC_{50} > 24$ мкМ в ТОХ-анализе HEK293, описанном выше.

Анализ продуцирования интерферона в клетках человека РВМС (РВМС HEK-ISRE-luc LEC)

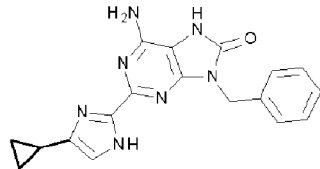
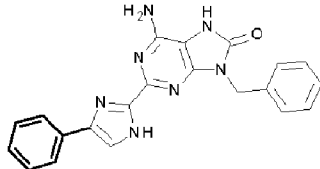
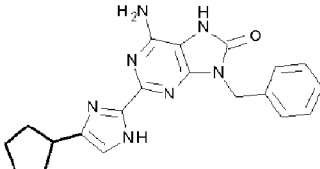
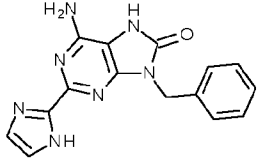
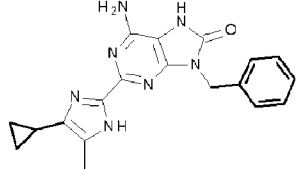
Активация TLR7 человека приводит к усиленному продуцированию интерферона плазмацитойдными дендритными клетками, присутствующими в крови человека. Способность

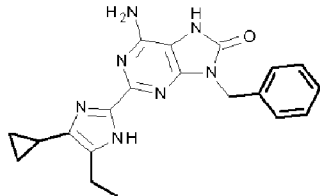
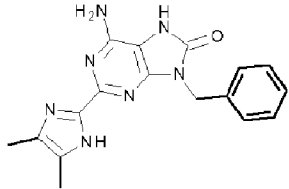
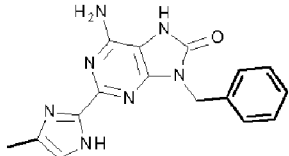
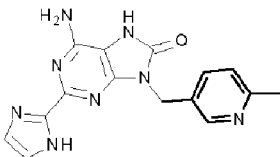
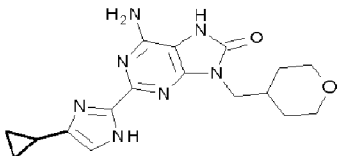
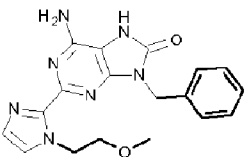
соединения индуцировать выработку интерферона оценивали посредством определения интерферона в кондиционированных средах из мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC). Наличие интерферона в образцах определяли с помощью репортерной клеточной линии для выявления интерферона, стабильно экспрессирующей репортерный конструкт с интерферон-стимулируемыми реагирующими элементами (ISRE)-luc. Элемент ISRE с последовательностью GAAACTGAACT высокочувствителен к транскрипционному фактору STAT1-STAT2-IRF9, который активируется при связывании IFN-I с рецептором IFN (Clontech, PT3372-5W). Кратко, PBMC получали из лейкоцитарных пленок от по меньшей мере двух доноров с применением стандартного протокола центрифугирования с фиколлом. Выделенные PBMC ресуспендировали в среде RPMI, дополненной 10% сывороткой АВ человека, и 2×10^5 клеток/на лунку распределяли в 384-луночных планшетах, содержащих соединения (общий объем 70 мкл). После инкубации в течение ночи 10 мкл надосадочной жидкости переносили в 384-луночные планшеты, содержащие 5×10^3 HEK-ISREluc клеток/лунка в 30 мкл (помещенные в планшеты за день до этого). После 24 часов инкубации активацию элементов ISRE определяли посредством анализа люциферазной активности с применением 40 мкл/на лунку субстрата Steady Lite Plus (Perkin Elmer) и определяли посредством микропланшетного ридера с возможностью визуализации ViewLux ultraHTS (Perkin Elmer). Стимулирующую активность для каждого соединения на клетки HEK-ISRE-luc представили как LEC. LEC в свою очередь свидетельствует о степени активации ISRE при переносе определенного количества среды для культивирования PBMC. Рекомбинантный интерферон α -2a (Roferon-A) применяли в качестве стандартного контрольного соединения.

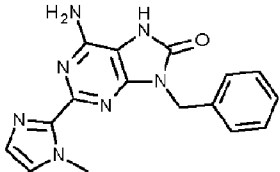
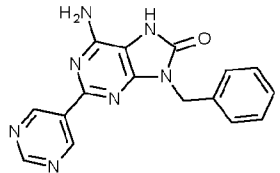
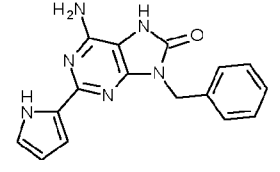
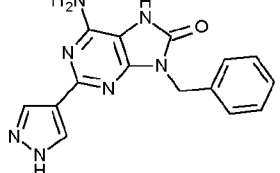
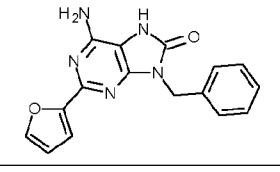
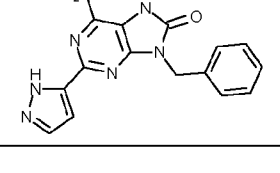
Значения LEC для соединений в таблице 2 на HEK293 TLR8-NF κ B-luc и HEK293 NF κ B-luc были больше, чем наивысшая тестируемая концентрация (больше 10 мкМ для соединения 6 и больше 25 мкМ для всех других соединений).

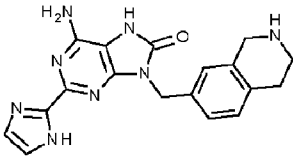
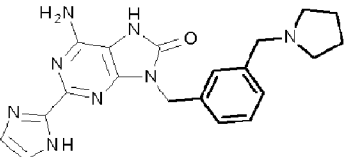
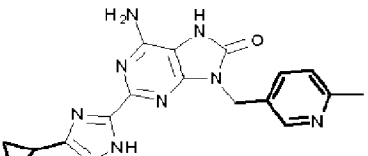
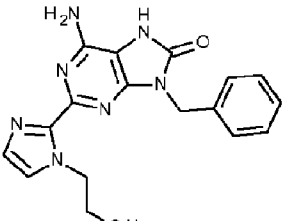
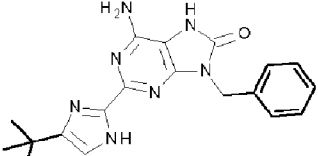
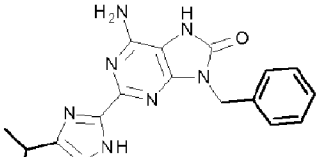
Таблица 2

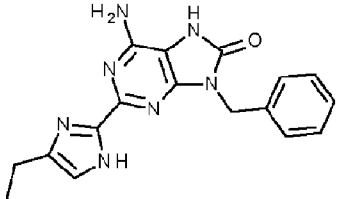
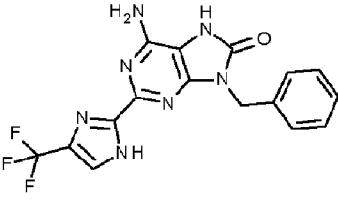
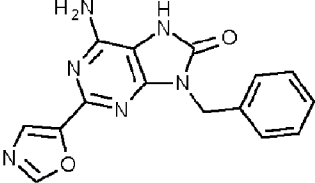
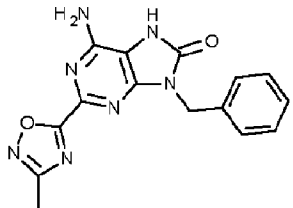
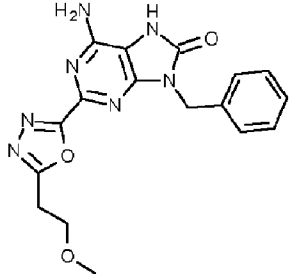
Биологическая активность соединений формулы (I)

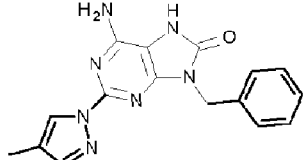
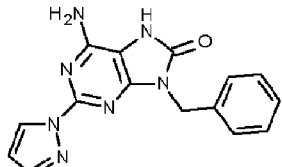
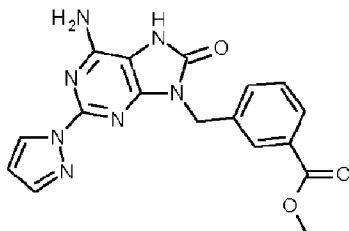
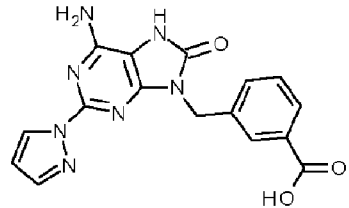
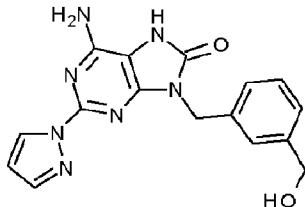
№	Структура	TLR7- wt_LEC 24 ч. (мкМ)	TLR7- d1RR2_LEC 24 ч. (мкМ)	TLR7- wt_LEC 48 ч. (мкМ)	TLR7- d1RR2_LEC 48 ч. (мкМ)	PBMC- HUH7_EC ₅₀ (мкМ)	PBMC HEK- ISRE-luc (LEC; мкМ)
1			0,33	8,25	0,18	0,081	0,064
2		4,72	1,2			0,531	
3		>24,59	7,67			13,97	
4			0,077	1,23	0,04	0,16	0,12
5			2,2	21,47	1,13	0,2	0,13

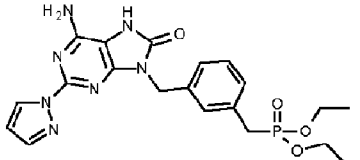
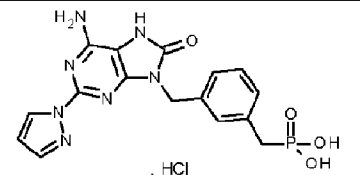
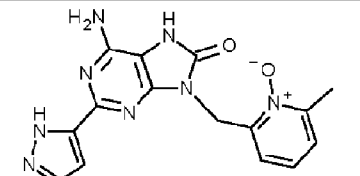
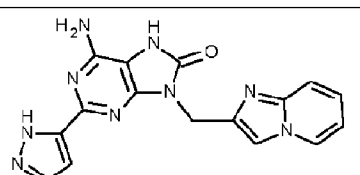
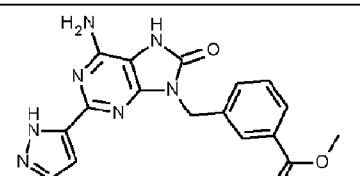
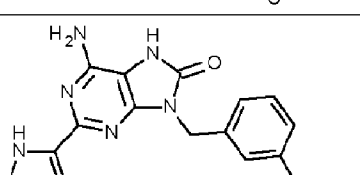
6			0,66	6,32	0,34	0,053	0,04
7				>25	1,46	0,64	0,88
8				5,91	0,17	0,17	0,25
9				0,88	0,07	0,05	0,03
10			18,93	>25	10,13	0,73	0,44
11				5,36	0,19	0,33	0,32

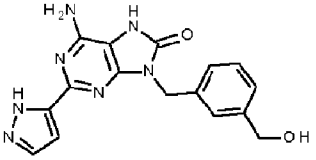
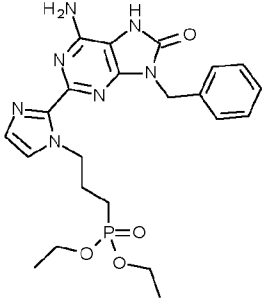
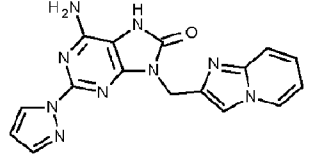
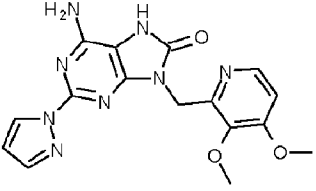
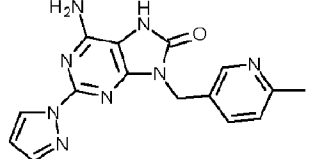
12				8,08	0,3	0,59	0,34
15		>24,59	10,57	>25	9,75	16,94	
18		>24,59	3,23	20,31	3,81	2,58	
19		>24,59	13,31	>25	16,6	12,36	
20			0,5	6,34	0,5	0,68	
23				0,23	0,007	0,13	0,12

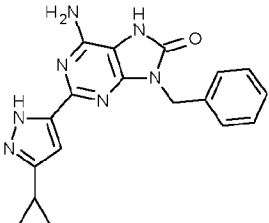
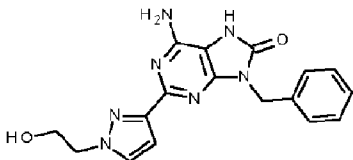
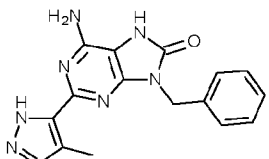
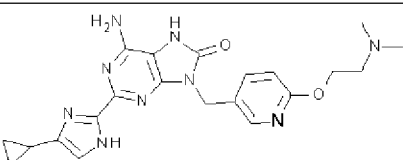
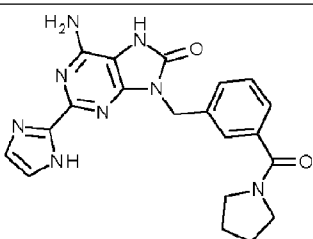
24				1,81	0,11	0,046	0,03
25				2,46	0,39	0,006	0,007
26				2,42	0,21	0,005	0,006
27				6,03	0,63	0,8	0,43
28				>25	8,77	>23,81	>23,81
29					1,58	1,66	0,82

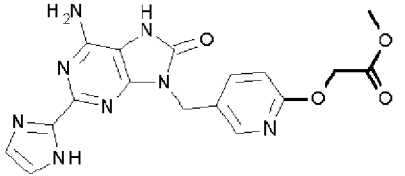
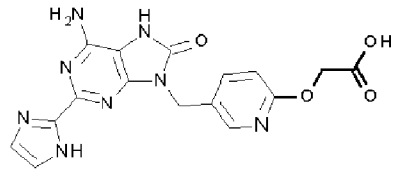
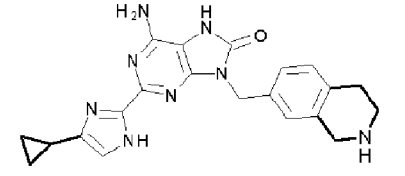
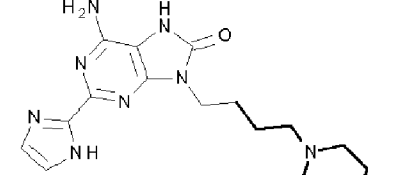
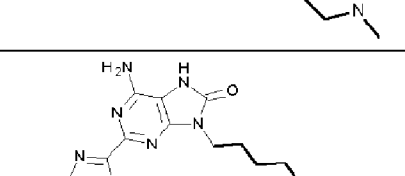
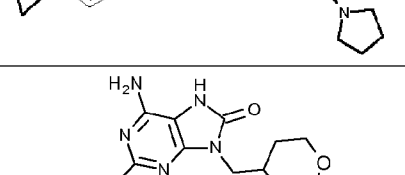
30				12, 71	0, 14	0, 17	0, 12
31				23, 23	0, 51	1, 3	2, 2
32				6, 5	0, 97	1, 51	0, 97
33				21, 66	0, 98	0, 81	0, 52
34				>25	1, 21	0, 69	0, 49

35				0,36	0,033	0,17	0,10
36				0,22	0,017	0,047	0,033
37				0,05			0,01
38				0,38			>25
39				0,05			0,01

40				0,03			0,01
41				0,03			0,40
42				1,73			0,45
43				0,50			0,15
44				0,10			0,04
45				0,58			1,37

46				0,21			0,03
47				14,12			1,64
48				0,01			0,01
49				0,31			0,06
50				0,03			0,01

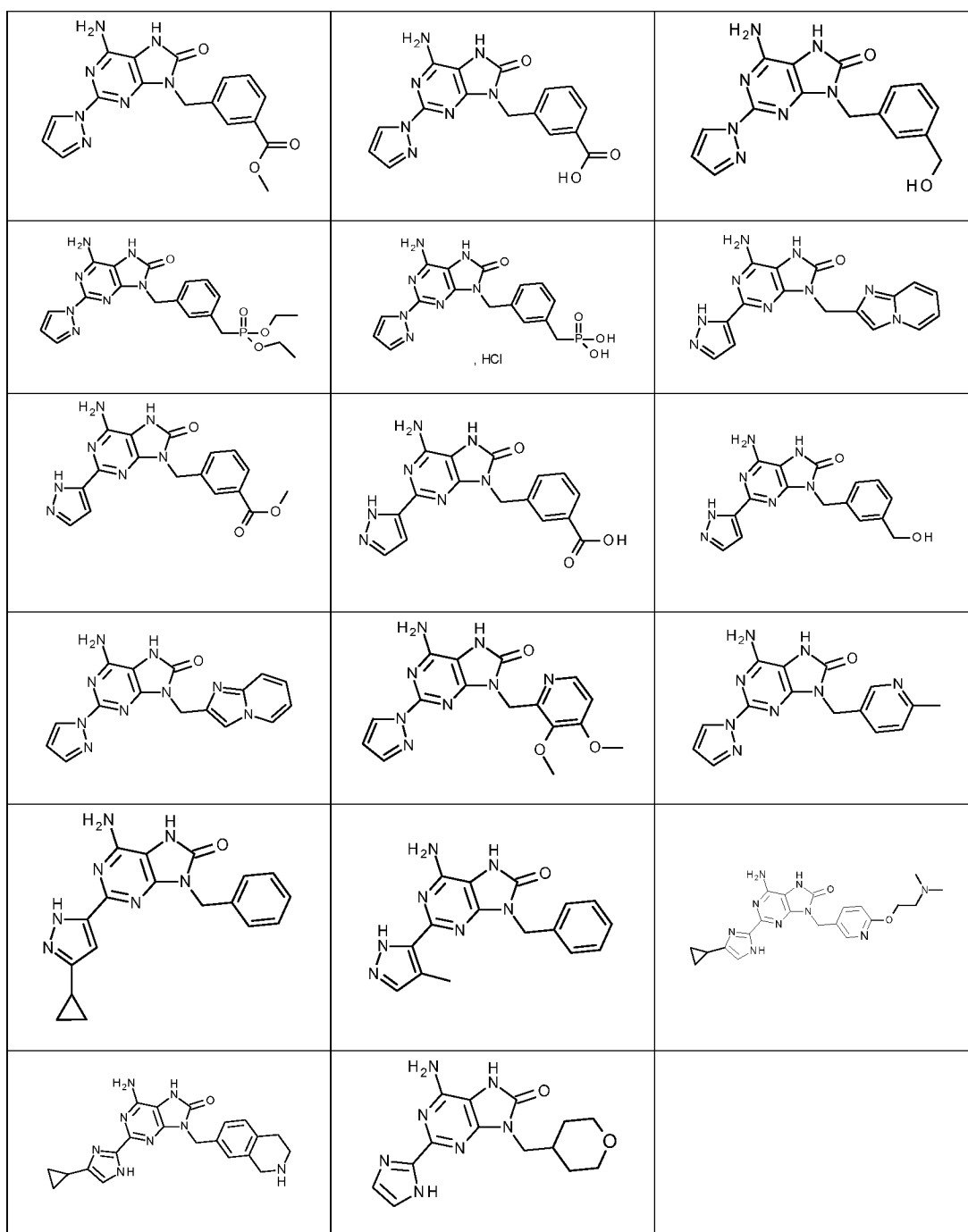
51				0,16			0,17
52				4,42	0,41		0,42
53				3,17	0,36	0,76	
54				16,1	5,65	0,05	0,07
55				4,11	0,06	1,27	1,16

57				0,44	0,06	1,21	1,38
58				0,99	0,06	2,75	2,69
60				>25	1,25	0,034	0,019
61				>25	9,73	1,34	0,95
62				21,2	>25	0,70	0,72
63				>25	2,58	6,72	4,39

Все соединения тестировали в анализах с репортерным геном для оценки активности TLR8, и они показали ЛЕС больше 17 мкМ.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, выбранное из группы, состоящей из:



или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Фармацевтическая композиция для активации толл-подобного рецептора 7 (TLR7), содержащая соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемую соль, вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями, разбавителями или носителями.

3. Лекарственное средство для активации TLR7, включающее соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемую соль.

4. Применение соединения по п.1 или его фармацевтически приемлемой соли для активации TLR7.

5. Применение фармацевтической композиции по п.2 для активации TLR7.

По доверенности

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference TIP 258 PCT	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/EP2012/072090	International filing date (day/month/year) 08/11/2012	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 09/11/2011
Applicant JANSSEN R&D IRELAND		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 6 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6bis(a)).

c. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No. III)

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☐ the text is approved as submitted by the applicant
☒ the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

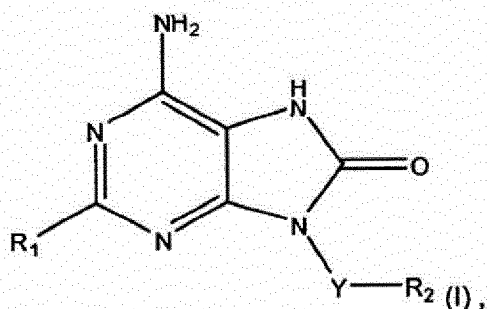
6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
☐ as suggested by the applicant
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
- b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

Box No. IV Text of the abstract (Continuation of item 5 of the first sheet)

I

The present invention relates to purine derivatives of formula (I), processes for their preparation, pharmaceutical compositions, and their use in treating viral infections.



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2012/072090

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D473/34 A61K31/522 A61P31/12 C07D519/00
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 6 376 501 B1 (ISOBE YOSHIKI [JP] ET AL) 23 April 2002 (2002-04-23) claims and examples 23, 26, 27 and 49 -----	1-5
X	US 6 028 076 A (HIROTA KOHSAKU [JP] ET AL) 22 February 2000 (2000-02-22) cited in the application claims and examples 25, 28, 29 and 51 -----	1-5
X	US 2007/225303 A1 (OGITA HARUHISA [JP] ET AL) 27 September 2007 (2007-09-27) claims 1, 18 and 19 -----	1-5
X	WO 2011/049825 A1 (GILEAD SCIENCES INC [US]; HALCOMB RANDALL L [US]; ROETHLE PAUL A [US]) 28 April 2011 (2011-04-28) claim 1 and page 6, first paragraph ----- -/-	1-5



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 December 2012

Date of mailing of the international search report

04/01/2013

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Sahagún Krause, H

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2012/072090

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2009/005687 A1 (GILEAD SCIENCES INC [US]; GRAUPE MICHAEL [US]; HALCOMB RANDALL L [US]) 8 January 2009 (2009-01-08) claims 1 and 36 -----	1-5
X	WO 2008/114008 A1 (ASTRAZENECA AB [SE]; DAINIPPON SUMITOMO PHARMA CO [JP]; ASTRAZENECA UK) 25 September 2008 (2008-09-25) claim 1 and page 20, lines 19-20 -----	1-5
X	EP 2 138 497 A1 (DAINIPPON SUMITOMO PHARMA CO [JP]; ASTRAZENECA AB [SE]) 30 December 2009 (2009-12-30) claim 1 and par. [0006] -----	1-5
X	EP 1 939 198 A1 (DAINIPPON SUMITOMO PHARMA CO [JP]; ASTRAZENECA AB [SE]) 2 July 2008 (2008-07-02) claim 1 and par. [0006] -----	1-5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2012/072090

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 6376501	B1	23-04-2002	AT 324895 T 15-06-2006
		AU 740321 B2	01-11-2001
		AU 1684699 A	12-07-1999
		CA 2315733 A1	01-07-1999
		DE 69834430 T2	19-04-2007
		EP 1043021 A1	11-10-2000
		JP 4390387 B2	24-12-2009
		NZ 505297 A	27-07-2001
		TW 572758 B	21-01-2004
		US 6376501 B1	23-04-2002
		WO 9932122 A1	01-07-1999
		ZA 9811778 A	22-06-1999
US 6028076	A	22-02-2000	AT 283855 T 15-12-2004
		AU 698419 B2	29-10-1998
		CA 2230808 A1	15-01-1998
		DE 69731823 D1	05-01-2005
		DE 69731823 T2	15-12-2005
		EP 0882727 A1	09-12-1998
		ES 2232871 T3	01-06-2005
		JP 4667543 B2	13-04-2011
		NO 980908 A	30-04-1998
		NZ 329798 A	29-04-1999
		TW 552261 B	11-09-2003
		US 6028076 A	22-02-2000
		WO 9801448 A1	15-01-1998
		ZA 9705946 A	16-04-1998
US 2007225303	A1	27-09-2007	EP 1728792 A1 06-12-2006
		US 2007225303 A1	27-09-2007
		WO 2005092892 A1	06-10-2005
WO 2011049825	A1	28-04-2011	AU 2010310813 A1 03-05-2012
		CA 2777824 A1	28-04-2011
		CN 102666541 A	12-09-2012
		CO 6531469 A2	28-09-2012
		CR 20120255 A	02-07-2012
		EA 201290131 A1	30-08-2012
		EP 2491035 A1	29-08-2012
		KR 20120105448 A	25-09-2012
		PE 10912012 A1	17-08-2012
		US 2011098248 A1	28-04-2011
		WO 2011049825 A1	28-04-2011
WO 2009005687	A1	08-01-2009	AR 067182 A1 30-09-2009
		AU 2008271127 A1	08-01-2009
		CA 2691444 A1	08-01-2009
		CN 101784548 A	21-07-2010
		CO 6251258 A2	21-02-2011
		EA 200971081 A1	29-10-2010
		EC SP109905 A	30-04-2010
		EP 2170888 A1	07-04-2010
		JP 2010532353 A	07-10-2010
		KR 20100039368 A	15-04-2010
		NZ 582090 A	25-05-2012
		TW 200914454 A	01-04-2009
		US 2009047249 A1	19-02-2009
		US 2011236348 A1	29-09-2011

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2012/072090

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		US 2012244121 A1	27-09-2012
		WO 2009005687 A1	08-01-2009
WO 2008114008 A1	25-09-2008	EP 2132209 A1	16-12-2009
		JP 2010522151 A	01-07-2010
		US 2010130491 A1	27-05-2010
		WO 2008114008 A1	25-09-2008
EP 2138497 A1	30-12-2009	EP 2138497 A1	30-12-2009
		US 2010099870 A1	22-04-2010
		WO 2008114819 A1	25-09-2008
EP 1939198 A1	02-07-2008	EP 1939198 A1	02-07-2008
		US 2009192153 A1	30-07-2009
		WO 2007034881 A1	29-03-2007