

Цей винахід стосується пептидоміметичних сполук та їхніх проміжних продуктів, їх одержання, в тому числі стереоселективних процесів синтезу таких проміжних продуктів, фармацевтичних композицій, що містять згадані пептидоміметичні сполуки, та застосування згаданих пептидоміметичних сполук або їх композицій як інгібіторів протеаз, зокрема, інгібіторів серинпротеази, більш точно, як інгібіторів протеази NS3 вірусу гепатиту С ("HCV"). Згадані пептидоміметичні сполуки як інгібітори протеази NS3 HCV корисні, зокрема, для втручання в життєвий цикл вірусу гепатиту С і при лікуванні або профілактиці інфекції HCV або фізіологічних станів, пов'язаних з такою інфекцією. Цей винахід стосується також способів комплексної терапії, призначеної для інгібування розмноження HCV у клітинах або для лікування чи профілактики інфекції HCV у пацієнтів із застосуванням для вказаних цілей згаданих пептидоміметичних сполук або їх композицій, або наборів та фармацевтичних комплексів. Згідно з цим винаходом, до фармацевтичних композицій, які ним охоплюються, належать композиції, що включають інгібітор серинпротеази HCV в комбінації з інтерфероном, активним проти HCV; інгібітор серинпротеази HCV в комбінації з відмінною від інтерферону сполукою, активною проти HCV; або інгібітор серинпротеази HCV в комбінації з інтерфероном, активним проти HCV, та відмінною від інтерферону сполукою, активною проти HCV. Крім того, цей винахід стосується стереоселективних способів одержання хіральних проміжних похідних біциклопроліна, корисних при синтезі згаданих пептидоміметичних сполук.

Інфекція HCV є одною з невіршених на цей час проблем медицини і розглядається нині як причина більшості випадків захворювання на гепатити, що не належать до типів А і В.

Вважається, що вірусом гепатиту С хронічно інфіковано 3% населення світу [дивись А. Альберті та інші, "Природна історія гепатиту С" - A. Alberti et al., "Natural History of Hepatitis C" J. Hepatol. 31 (Suppl. 1), 17-24, 1999]. Тільки в США частка інфікованого населення становить 1,8%, або 3,9млн. чоловік [М. Альтер, "Інфекція вірусу гепатиту С у Сполучених Штатах" - M. J. Alter, "Hepatitis C Virus Infection in the United States", J. Hepatology. 31 (Suppl. 1), 88-91, 1999]. Із інфікованих пацієнтів більше ніж у 70% розвивається хронічне захворювання, яке вважається головною причиною цирозу та печінково-клітинної карциноми [Д. Лаванші, "Глобальне обстеження та контроль гепатиту С" - D. Lavanchy, "Global Surveillance and Control of Hepatitis C", J. Viral Hepatitis. 6. 35-47, 1999].

Розмноження HCV охоплює геномне кодування поліпротеїну з 3010-3033 амінокислот [Чжу та інші, "Генетична організація та різноманіття вірусу гепатиту С" - Q.-L. Choo et al., "Genetic Organization and Diversity of the Hepatitis C Virus", Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 88. 2451-2455, 1991; Като та інші, "Молекулярне клонування геному вірусу гепатиту С людини з японських пацієнтів, хворих на гепатити, що не належать до типів А і В" - M. Kato et al., "Molecular Cloning of the Human Hepatitis C Virus Genome From Japanese Patients with Non-A, Non-B Hepatitis", Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 87. 9524-9528, 1990; Такамідзава та інші, "Структура та організація геному вірусу гепатиту С, ізолюваного з організмів людей-носіїв" - A. Takamizawa et al., "Structure and Organization of the Hepatitis C Virus Genome Isolated From Human Carriers", J. Virol. 65, 1105-1113, 1991]. Припускається, що неструктурні (NS) протеїни забезпечують основний каталітичний механізм розмноження вірусу. Такі NS протеїни утворюються внаслідок протеолітичного розщеплення поліпротеїну [Р. Бартеншлягер та інші, "Неструктурний протеїн 3 вірусу гепатиту С кодує протеїназу типу серинпротеази, необхідну для розщеплення зв'язків між NS3/4 та NS4/5" - R. Bartenschlager et al., "Nonstructural Protein 3 of the Hepatitis C Virus Encodes a Serine-Type Proteinase Required for Cleavage at the NS3/4 and NS4/5 Junctions", J. Virol. 67, 3835-3844, 1993; А. Гракуї та інші, "Ідентифікація серинпротеази, кодованої вірусом гепатиту С: Визначення місць розщеплення поліпротеїну, що залежать від протеїнази" - A. Grakoui et al., "Characterization of the Hepatitis C Virus-Encoded Serine Proteinase: Determination of Proteinase-Dependent Polyprotein Cleavage Sites", J. Virol. 67, 2832-2843, 1993; А. Гракуї та інші, "Експресія та ідентифікація продуктів розщеплення поліпротеїну вірусу гепатиту С" - A. Grakoui et al., "Expression and Identification of Hepatitis C Virus Polyprotein Cleavage Products", J. Virol. 67, 1385-1395, 1993; Л. Томеї та інші, "NS3 є серинпротеазою, необхідною для перетворення поліпротеїну вірусу гепатиту С" - L. Tomei et al., "NS3 is a serine protease required for processing of hepatitis C virus polyprotein", J. Virol. 67, 4017-4026, 1993]. Дійсно, показано, що послідовність перших амінокислот NS3 кількістю 181 (залишки 1027-1207 вірусного поліпротеїну) містить домен серинпротеази NS3, який впливає на всі чотири розташовані далі активні центри поліпротеїну HCV [Лін та інші, "Серинпротеаза NS3 вірусу гепатиту С: Вимоги транс-розщеплення та кінетика процесу" - C. Lin et al., "Hepatitis C Virus NS3 Serine Proteinase: Trans-Cleavage Requirements and Processing Kinetics", J. Virol. 68, 8147-8157, 1994].

Неструктурний протеїн 3 (NS3) вірусу гепатиту С містить активну групу (сайт) серинпротеази, яка сприяє перетворенню більшості вірусних ензимів і, таким чином, розглядається як суттєвий чинник розмноження та інфекційності вірусу. Суттєва роль протеази NS3 витікає з того факту, що мутації у протеазі NS3 вірусу жовтої лихоманки знижує інфекційність вірусу [Т. Чамберс та інші, "Свідчення того, що N-термінальна група неструктурного протеїну NS3 вірусу жовтої лихоманки є серинпротеазою, відповідальною за сайт-специфічне розщеплення вірусного поліпротеїну" - T.J. Chambers et al., "Evidence that the N-terminal Domain of Nonstructural Protein NS3 From Yellow Fever Virus is a Serine Protease Responsible for Site-Specific Cleavages in the Viral Polyprotein", Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 87. 8898-8902, 1990]. Пізніше було показано, що мутації при активному сайті NS3 протеази HCV можуть повністю ліквідувати інфекцію HCV у піддослідних шимпанзе [С. Райс та інші, "Ензиматичні впливи, кодовані вірусом гепатиту С, і збережені елементи РНК у 3'-нетрансльованій області мають суттєве значення для розмноження вірусу in vivo" - C.M. Rice et al., "Hepatitis C virus-encoded enzymatic activities and conserved RNA elements in the 3'-nontranslated region are essential for virus replication in vivo". J. Virol. 74(4). 2046-51, 2000]. Серинпротеаза NS3 HCV також розглядається як суттєвий фактор розмноження вірусу, оскільки вона, а також пов'язаний з нею ко-фактор, NS4A, сприяють перетворенню всіх вірусних ензимів. Це перетворення, очевидно, є аналогічним тому, що викликається аспарагілпротеазою вірусу імунodefіциту людини (ВІЛ). Крім того, продемонстроване застосування інгібіторів протеази ВІЛ як ефективних противірусних агентів свідчить, що переривання стадії перетворення протеїну під впливом протеаз у життєвому циклі вірусу приводить до терапевтично активних агентів. Таким чином, ензим протеаза є привабливою метою для дослідження лікарських засобів.

Описано кілька потенціальних інгібіторів протеази HCV. В кожній з [публікацій патентних документів WO

00/09558, WO 00/09543, WO 99/64442, WO 99/07733, WO 99/07734, WO 99/50230, WO 98/46630, WO 98/17679 та WO 97/43310, в патенті США № 5,990,276, в публікаціях Лінас-Брунет та інших (M. Llinas-Brunet et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 8. 1713-1718, 1998), Хан та інших (W. Han et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 10. 711-713, 2000), Дандсон та інших (R. Dundson et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 10. 1571-1579, 2000), Лінас-Брунет та інших (M. Llinas-Brunet et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 10. 2267-2270, 2000) і Ла-Плант та інших (S. LaPlante et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 10. 2271-2274, 2000)] описані потенційні інгібітори протеази NS3 HCV. На жаль, на цей час інгібітори серинпротеази як агенти, активні проти HCV, не випускаються у продаж.

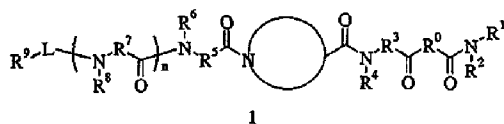
Фактично на даний час відсутні будь-які терапевтичні засоби проти HCV, за винятком α -інтерферону, комбінації α -інтерферону з рибавирином та пегільованого α -інтерферону, що з'явився нещодавно. Проте тривалий ефект при терапії α -інтерфероном та α -інтерфероном із рибавирином досягається в незначній кількості випадків (менше 50%), а побічні ефекти таких способів терапії досить значні та обтяжливі [M. Уолкер, "Вірус гепатиту С: огляд сучасних підходів та досягнень" - M.A. Walker, "Hepatitis C Virus: an Overview of Current Approaches and Progress", DDT. 4. 518-529, 1999; Д. Морадпур та інші, "Сучасні та розроблювані способи терапії гепатиту С" - D. Moradpour et al., "Current and Evolving Therapies for Hepatitis C", Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. 11. 1199-1202, 1999; X. Янсен та інші, "Самогубство, пов'язане з лікуванням хронічного вірусного гепатиту α -інтерфероном" - H.L.A. Janssen et al., "Suicide Associated with Alfa-Interferon Therapi for Chronic Viral Hepatitis", J. Hepatol. 21. 241-243, 1994; і П. Рено та інші, "Побічні ефекти альфа-інтерферону" - P.F. Renault et al., "Side effects of alpha interferon", Seminar in Liver Disease 9. 273-277, 1989]. Крім того, терапія інтерфероном забезпечує довготривалу ремісію лише в частині випадків (приблизно 25%) [О. Вейланд, "Інтерференова терапія при хронічних інфекціях гепатиту С" - O. Weiland, "Interferon Therapy in Chronic Hepatitis C Virus Infection", FEMS Microbiol. Rev. 14, 279-288, 1994]. Вищезгадані проблеми, пов'язані з α -інтерфероновою терапією, стимулювали розроблення та клінічні дослідження пегільованих дериватизованих сполук α -інтерферону як удосконалених терапевтичних засобів проти HCV.

Із розгляду сучасного стану в галузі терапевтичних засобів проти HCV зрозуміло, що існує потреба в більш ефективних засобах терапії, які краще переносяться хворими.

Крім того, синтезу складних пептидоміметичних сполук тривалий час заважає нестереоселективний характер більшості процесів органічного синтезу. Добре відомо, що енантіомери пептидоміметичних сполук значно відрізняються за терапевтичною активністю. Тому розроблення таких стереоспецифічних процесів синтезу забезпечує значні переваги.

Попередні спроби синтезувати хіральні-специфічні проміжні продукти типу біциклопролінатів, корисні для синтезу терапевтичних пептидоміметичних інгібіторів протеаз, що відповідають цьому винаходу, мали вади, що витікають з енантіомерно неселективних або діастереомерно неселективних чи надто довгих схем синтезу, або ж непридатні для виготовлення значних кількостей продуктів. Таким чином, існує потреба в засобах, що забезпечують можливість виготовлення значних кількостей біциклопролінатів діастереоселективним способом та в енантіомерно збагаченій формі.

Цей винахід стосується пептидоміметичної сполуки формули 1



де:

R^0 є зв'язок або диформетилен;

R^1 є водень, факультативно заміщена аліфатична група, факультативно заміщена циклічна група або факультативно заміщена ароматична група;

кожна із груп R^2 та R^9 незалежно від іншої є факультативно заміщена аліфатична група, факультативно заміщена циклічна група або факультативно заміщена ароматична група;

кожна із груп R^3 , R^5 та R^7 незалежно від інших є метилен, факультативно заміщений факультативно заміщеною аліфатичною групою, факультативно заміщеною циклічною групою або факультативно заміщеною ароматичною групою, або етилен, факультативно заміщений факультативно заміщеною аліфатичною групою, факультативно заміщеною циклічною групою або факультативно заміщеною ароматичною групою, факультативно заміщений (1,1- або 1,2-)-циклоалкілен або факультативно заміщений (1,1- або 1,2-)-гетероциклілен;

кожна із груп R^4 , R^6 , R^8 та R^{10} незалежно від інших є водень або факультативно заміщена аліфатична група;

є заміщений моноциклічний азаетероцикліл або факультативно заміщений поліциклічний азаетероцикліл, або факультативно заміщений поліциклічний азаетероцикліленіл, де ненасиченим є цикл, найбільш віддалений від циклу, що несе групу $R^9-L-(N(R^8)-R^7-C(O)-)_n-N(R^6)-R^5-C(O)-N$ і до якого приєднана група $-C(O)-N(R^4)R^3-C(O)C(O)NR^2R^1$;

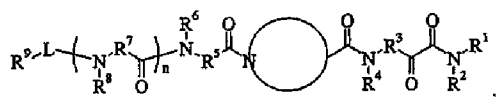
L є $-C(O)-$, $-OC(O)-$, $NR^{10}C(O)-$, $-S(O)_2-$ або $-NR^{10}S(O)_2-$; і

n є 0 або 1, або

фармацевтично прийнятна сіль або проліки такої сполуки, або сольват такої сполуки, її солі чи проліків, за умови, що

коли є заміщена група то L є $-OC(O)-$ і R^9 є факультативно заміщена аліфатична група, або щонайменше одна із груп R^3 , R^5 та R^7 є етанділ, факультативно заміщений факультативно заміщеною аліфатичною групою, факультативно заміщеною циклічною групою або факультативно заміщеною

ароматичною групою, або R^4 є факультативно заміщена аліфатична група.
Цей винахід пропонує також сполуку, що має структурну формулу



де:

R^1 є водень, факультативно заміщена аліфатична група, факультативно заміщена циклічна група або факультативно заміщена ароматична група;

кожна із груп R^2 та R^9 незалежно від іншої є факультативно заміщена аліфатична група, факультативно заміщена циклічна група або факультативно заміщена ароматична група;

кожна із груп R^3 , R^5 та R^7 незалежно від іншої є метандііл, факультативно заміщений факультативно заміщеною аліфатичною групою, факультативно заміщеною циклічною групою або факультативно заміщеною ароматичною групою, або етандііл, факультативно заміщений факультативно заміщеною аліфатичною групою, факультативно заміщеною циклічною групою або факультативно заміщеною ароматичною групою;

кожна із груп R^4 , R^6 , R^8 та R^{10} незалежно від інших є водень або факультативно заміщена аліфатична група;

 є заміщений моноциклічний азгетероцикліл або факультативно заміщений поліциклічний азгетероцикліл, або факультативно заміщений поліциклічний азгетероцикліленіл, де ненасиченим є цикл, найбільш віддалений від циклу, що несе групу $R^9-L-(N(R^8)-R^7-C(=O)-)_n-N(R^6)-R^5-C(=O)-N$ і до якого приєднана група $-C(=O)-N(R^4)-R^3-C(=O)-C(=O)-NR^2R^1$;

L є $-C(=O)-$, $-OC(=O)-$, $NR^{10}C(=O)-$, $-S(O)_2-$ або $-NR^{10}S(O)_2-$; і

n є 0 або 1, або

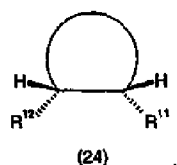
фармацевтично прийнятна сіль або проліки такої сполуки, або сольват такої сполуки, її солі чи проліків, за умови, що

коли  є заміщена група , то L є $-OC(=O)-$ і R^9 є факультативно заміщена аліфатична група, або щонайменше одна із груп R^3 , R^5 та R^7 є етандііл, факультативно заміщений факультативно заміщеною аліфатичною групою, факультативно заміщеною циклічною групою або факультативно заміщеною ароматичною групою, або R^4 є факультативно заміщена аліфатична група.

Цей винахід стосується також фармацевтичної композиції, що включає сполуку формули 1, та спосіб застосування сполуки формули 1 для інгібування протеази HCV або для лікування та профілактики інфекції HCV у пацієнтів або фізіологічного стану, пов'язаного з такою інфекцією.

Цей винахід стосується також стереоселективного способу одержання хіральної похідної біциклопроліну, яка є проміжним продуктом, корисним для одержання сполуки формули 1. Процес синтезу включає такі стадії:

(а) розщеплення та циклізацію сполуки формули 24



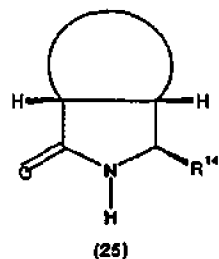
де:

 є факультативно заміщений циклоалкіл або факультативно заміщений конденсований арилциклоалкіл;

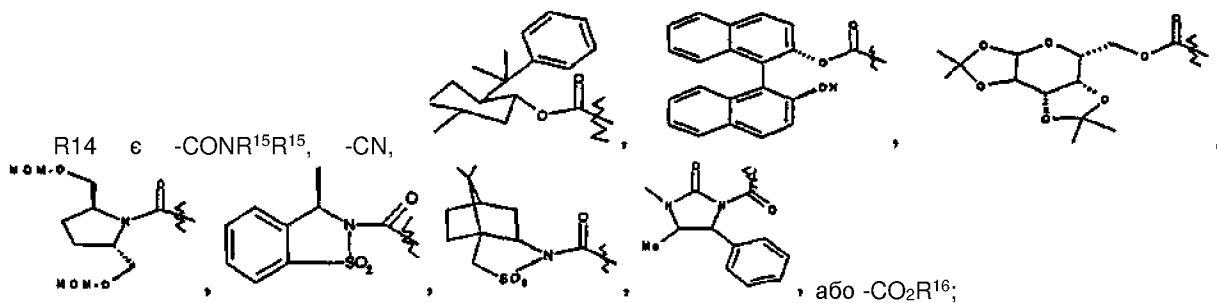
R^{11} є $-CO_2R^{13}$;

R^{12} є адукт імінної похідної гліциніміду;

R^{13} є група захисту кислоти або факультативно заміщена аліфатична група; в умовах розщеплення та циклізації з одержанням сполуки формули 25



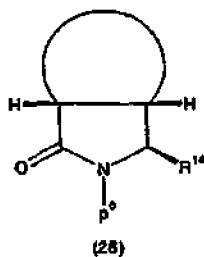
де:



R^{15} є факультативно заміщена аліфатична група;

R^{16} є група захисту кислоти, факультативно заміщений арил або факультативно заміщена аліфатична група; і

(b) захист атому азоту в групі лактаму сполуки формули 25 групою захисту амідів з одержанням сполуки формули 26

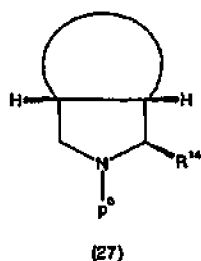


де:

p^0 є група захисту амідів;

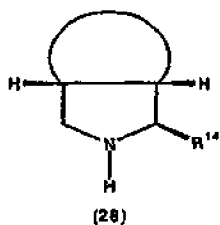
R^{14} відповідає вищевизначеному визначенню; і

(c) відновлення сполуки формули 26 у відновлювальних умовах з одержанням сполуки формули 27



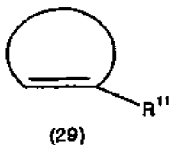
де p^0 та R^{14} відповідають вищевизначеному визначенню; і

(d) відщеплення групи захисту від сполуки формули 27 в умовах відщеплення групи захисту з одержанням сполуки формули 28



де R^{14} відповідає вищевизначеному визначенню.

Цей винахід стосується також вищевизначеного способу синтезу, який додатково включає стадію, на якій сполуку формули 24 одержують шляхом здійснення приєднання за Міхаєлем імінної гліцинімідної сполуки до сполуки формули 29



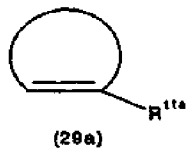
де:



є факультативно заміщений циклоалкеніл або факультативно заміщений конденсований арилциклоалкеніл;

R^{11} є $-\text{CO}_2\text{R}^{13}$;

причому
сполука формули 29 може бути одержана шляхом синтезу складного ефіру зі сполуки формули 29a



де:



R^{11a} є -CHO, -COR¹⁵ -ON або -CONR¹⁵R¹⁵;i

R¹⁵ відповідає вищевизначеному визначенню.

Мається на увазі, що обізнаному фахівцю відомо, що перетворення кетонів у складні ефіри можна здійснити, наприклад, проведенням реакції Байера-Віллігера. Перетворення нітрilів та амідів у складні ефіри можна здійснити, наприклад, шляхом водного гідролізу з подальшою естерифікацією. Перетворення альдегідів у складні ефіри можна здійснити, наприклад, шляхом окиснення альдегіду з подальшою естерифікацією.

Іншим аспектом винаходу є сполука формули 1, де замісники вибрані з комбінації поданих нижче конкретних варіантів або варіантів, яким віддається перевага.

Ще одним аспектом винаходу є сполука формул 24-29, де замісники вибрані з комбінації поданих нижче конкретних варіантів або варіантів, яким віддається перевага.

Ще одним аспектом винаходу є фармацевтичні композиції, які включають, крім одного або кількох інгібіторів серинпротеази HCV, один або кілька інтерферонів або сполук, що індукують продукування інтерферонів, які активні проти HCV, та/або одну або кілька сполук, активних проти HCV, в тому числі імунomodulatory сполуки, наприклад, імуностимуляторні цитокіни, що проявляють антивірусну активність відносно HCV, та фармацевтично прийнятний носій.

Ще одним аспектом цього винаходу є способи лікування або профілактики інфекції HCV у пацієнта, що потребує такого втручання, які включають введення в організм згаданого пацієнта фармацевтично ефективної кількості комбінації одного або кількох інгібіторів серинпротеази HCV; одного або кількох інтерферонів або сполук, що індукують продукування інтерферону, активного проти HCV, та/або однієї або кількох сполук, активних проти HCV, в тому числі імунomodulatory сполук, наприклад, імуностимуляторних цитокінів, що проявляють антивірусну активність відносно HCV.

Цей винахід стосується також застосування одного або кількох інгібіторів серинпротеази HCV в комбінації з одним або кількома інтерферонами або сполуками, що індукують продукування інтерферону, активного проти HCV, та/або однією або кількома сполуками, активними проти HCV, в тому числі з імунomodulatory сполуками, наприклад, імуностимуляторними цитокінами, що проявляють антивірусну активність відносно HCV, для виготовлення лікарських засобів для лікування або профілактики інфекції HCV у пацієнта, що потребує такого втручання.

Цей винахід стосується також набору або фармацевтичної упаковки для лікування або профілактики інфекції HCV у пацієнта, причому згаданий набір або фармацевтична упаковка включає в себе кілька окремих контейнерів, причому щонайменше один зі згаданих контейнерів містить один або кілька інгібіторів серинпротеази HCV (окремо або в сполученні з фармацевтично прийнятним носієм або розріджувачем); щонайменше один з інших згаданих контейнерів містить один або кілька інтерферонів або сполук, що індукують продукування інтерферонів, які активні проти HCV (окремо або в сполученні з фармацевтично прийнятним носієм або розріджувачем); і факультативно щонайменше один з інших згаданих контейнерів містить одну або кілька сполук, активних проти HCV (окремо або в сполученні з фармацевтично прийнятним носієм або розріджувачем), в тому числі імунomodulatory сполуки, наприклад, імуностимуляторні цитокіни, що проявляють антивірусну активність відносно HCV.

Кількість інгібітора (інгібіторів) серинпротеази HCV, інтерферону (інтерферонів) або сполуки (сполук), активних проти HCV, у будь-якому з вищезгаданих варіантів застосування може являти собою фармацевтично ефективну кількість, субклінічну ефективну проти HCV кількість або комбінацію таких кількостей, за умови, що кінцева комбінація інгібітора (інгібіторів) серинпротеази HCV, інтерферону (інтерферонів) або сполуки (сполук), що індукують продукування інтерферону, активного проти HCV, та/або сполуки (сполук), активних проти HCV, становить фармацевтично ефективну кількість сполук, ефективну при лікуванні або профілактиці інфекції HCV у пацієнта.

Вищезазначені та інші аспекти, ознаки та переваги цього винаходу будуть краще зрозумілими з поданого нижче детального опису в зв'язку з рисунками, що додаються, які мають лише ілюстративний характер і не обмежують обсяг цього винаходу. На фігурах:

Фіг.1 представляє інгібування нагромадження РНК реплікону HCV через 48 год обробки клітин, що містять реплікон, сполукою CU та α -інтерфероном 2В поодиночі або в комбінації.

На Фіг.2 графічно показано характерні ізоболі для вжитих в комбінації сполук, які є антагоністами, адитивними компонентами та синергістами, згідно з методами розрахунків синергічності за Греко, Парком та Растром ("Застосування нового підходу до розрахунку синергізму лікарських засобів для комбінації цис-хлористої діаміноплатини та 1- β -D-арабінофуранозил-цитозину") [Greco, Park and Rustom, "Application of a New Approach for the Quantitation of Drug Synergism to the Combination of cis-Diamminedichloroplatinum and 1- β -D-Arabinofuranosylcytosine", Cancer research, 50, 5318-5327, 1990].

На Фіг.3 представлено геометричну залежність між показником α та кривизною ізоболі. Показано гіпотетичну ізоболу при рівні ефекту E=50% та прямолінійну ізоболу, яку слід очікувати в разі адитивності. M є точка перетину лінії $y=x$ з гіпотетичною ізоболою. N є точка перетину лінії $y=x$ з прямолінійною ізоболою.

O - початок координат (0,0). Величина $S=ON/OM$ характеризує кривизну ізоболі, де ON - відстань між точками O та N, а OM - відстань між точками O та M. Параметр α зв'язаний із величиною S рівнянням $\alpha=4(S^2-S)$.

На Фіг.4 показані розраховані за вищезгаданим методом Греко та інших ізоболі для комбінації сполуки CU з α -інтерфероном 2В (Шерінг-Плау) з використанням 6 розведень кожної сполуки в Експерименті 1.

На Фіг.5 показані розраховані за вищезгаданим методом Греко та інших ізоболі для комбінації сполуки CU з α -інтерфероном 2А з використанням 6 розведень кожної сполуки в Експерименті 2.

На Фіг.6 показані розраховані за вищезгаданим методом Греко та інших ізоболі для комбінації сполуки CU з α -інтерфероном 2В (Шерінг-Плау) із використанням 8 розведень кожної сполуки в Експерименті 3.

На Фіг.7 показані розраховані за вищезгаданим методом Греко та інших ізоболі для комбінації сполуки CU з α -інтерфероном 2А з використанням 8 розведень кожної сполуки в Експерименті 4.

На Фіг.8 показані розраховані за вищезгаданим методом Греко та інших ізоболі для комбінації сполуки CU з овечим τ -інтерфероном із використанням 8 розведень кожної сполуки в Експерименті 5.

На Фіг.9 показані розраховані за вищезгаданим методом Греко та інших ізоболі для комбінації сполуки ЕС з α -інтерфероном 2В (Шерінг-Плау) із використанням 8 розведень кожної сполуки в Експерименті 6.

На Фіг.10 показані розраховані за вищезгаданим методом Греко та інших ізоболі для комбінації сполуки ЕС з α -інтерфероном 2А з використанням 8 розведень кожної сполуки в Експерименті 7.

На Фіг.11 показані розраховані за вищезгаданим методом Греко та інших ізоболі для комбінації сполуки CU з β -інтерфероном із використанням 8 розведень кожної сполуки в Експерименті 8.

На Фіг.12 показані розраховані за вищезгаданим методом Греко та інших ізоболі для комбінації сполуки ЕР з α -інтерфероном 2В (Шерінг-Плау) із використанням 8 розведень кожної сполуки в Експерименті 9.

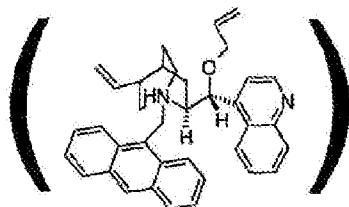
На Фіг.13 показані розраховані за вищезгаданим методом Греко та інших ізоболі для комбінації рибавіріну з α -інтерфероном 2В (Шерінг-Плау) із використанням 8 розведень кожної сполуки в Експерименті 10.

На Фіг.14 показано інгібування нагромадження РНК реплікону HCV внаслідок обробки клітин, що містять реплікон, або тільки рибавірином (А), або тільки α -інтерфероном 2В (В). На обох графіках показано вимірену характеристику інгібування, а також інгібування з поправкою на цитотоксичність сполук.

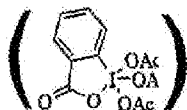
Зміст кожного з патентних документів та інших джерел, на які є посилання в цьому описі, включено в опис у повному обсязі.

Перелічені нижче аббревіатури, вжиті як вище, так і нижче в описі винаходу, за відсутності спеціальних зауважень мають такі значення:

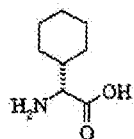
<u>Абревіатура</u>		<u>Реактив або фрагмент молекули</u>
англ.	укр.	
ACN	АцН	ацетонітрил
AIBN	АБІБН	2,2'-азо-біс-ізобутиронітрил
Boc, Boc	ВОС	<i>трет</i> -бутилкарбамат
BOP	БОФ	бензотриазол-1-іл-окситрис-(диметиламіно)-фосфонію гексафторфосфат
n-Bu ₃ SnH	-	гідрид три- <i>n</i> -бутилолова
<i>t</i> -Bu	-	<i>трет</i> -бутил
Cbz	БК	бензилкарбамат
chiral PTC	-	хіральний каталізатор переносу фази



DAST	ДАСТ	трифторид (діетиламіно)сірки (Et_2NSF_3)
DCC	ДЦК	дициклокарбодіїмід
DCM	ДХМ	дихлорметан, хлористий метилен (CH_2Cl_2)
DIBAL-H	ДІБАЛ-Г	гідрид діізобутилалюмінію
DIC	ДІК	1,3-діізопропілкарбодіїмід
DIPEA	ДІПЕА	діізопропілетиламін
DMAP	ДМАП	4-(N,N-диметиламіно)піридин
DMP	реагент	йодний реактив Десса-Мартіна
reagent	ДМП	



DMF	ДМФ	диметилформамід
DMSO	ДМСО	диметилсульфоксид
EA	ЕА	елементний аналіз
EDCI	ЕДК-	гідрохлорид 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)-
	HCl	карбодіїмиду
eq	екв.	еквівалент
Et	-	етил
Et_2O	-	діетиловий ефір
EtOH	-	етанол
EtOAc	-	етилацетат
Et_3Si	ТЕС	триетилсилан
FMOC	-	9-флуоренілметоксикарбоніл
H-Chg-OH		



HOAc	-	1-гідрокси-7-азабензотриазол
HOBT	-	1-гідроксибензотриазол

HOSu	-	N-гідроксисукцинамід
HPLC	PXBE	рідинна хроматографія високої ефективності
LAH	-	алюмогідрид літію
Me	-	метил
MeI	-	метилйодид, йодистий метил
MeOH	-	метанол
MeOC(O)Cl	-	метилхлорформіат
MOMCl	-	метоксиметилхлорид
MOM	-	метоксиметил
MS	МС	мас-спектроскопія
NaBH ₄	-	боргідрид натрію
Na ₂ C ₄ H ₄ O ₆	-	тарtrat натрію
NMP	NMP	N-метилпіролідон
NMR	ЯМР	ядерно-магнітний резонанс
P-	-	полімерний зв'язок
PyBOP	-	гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідино-фосфонію
TBD	ТБД	1,5,7-триазабіцикло[4.4.0]-дец-5-ен
RP-HPLC	PXBE-ОФ	рідинна хроматографія високої ефективності з оберненою фазою
TBSCl	-	трет-бутилдиметилхлорсилан
TCA	-	трихлороцтова кислота
TFA	-	трифтороцтова кислота
Tf ₂ O	-	ангідрид трифторметансульфоїкислоти (трифлат-ангідрид)
THF	ТГФ	тетрагідрофуран
THP	ТПП	тетрагідропіран
TLC	ТШХ	хроматографія в тонкому шарі

Перелічені нижче терміни, вжиті як вище, так і нижче в описі винаходу, за відсутності спеціальних зауважень мають такі значення:

Термін "кислотна ізоостерна група (кислотна ізоостера)" означає групу, яка має хімічні та фізичні властивості, які надають карбоксильній групі біологічно аналогічні властивості в широкому розумінні слова [дивись публікації: Ліпінський, "Біоізоостеризм у створенні лікарських засобів" - Lipinski, "Bioisosterism In Drug Design", Annual Reports in Medicinal Chemistry. 21. 283, 1986; Юнь, "Застосування біоізоостеризму в створенні нових лікарських засобів" - Yun, "Application Of Bioisosterism To New Drug Design", Hwahak Sekve. 33. 576-579, 1993; Чжао, "Біоізоостерична заміна та розроблення сполук свинцю в створенні лікарських засобів" - Zhao, "Bioisosteric Replacement And Development Of Lead Compounds In Drug Design", Huaxue Tongbao. 34-38, 1995; Грехем, "Теоретичні дослідження в створенні лікарських засобів: розподіл електронів у біоізоостерах ab initio" - Graham, "Theretical Studies Applied To Drug Design: ab initio Electronic Distributions In Bioisosteres", Teochem, 343, 105-109, 1995]. Прикладами кислотних біоізоостерних груп є -C(O)-NHON, -C(O)-CH₂OH, -C(O)-CH₂SH, -C(O)-NH-CN, сульфогрупа, фосфонієва група, алкілсульфонілкарбамоїл, тетразоліл, арилсульфонілкарбамоїл, N-метоксикарбамоїл, гетероарил-сульфонілкарбамоїл, 3-гідрокси-3-циклобутен-1,2-діон, 3,5-діоксо-1,2,4-оксадіазолінідиль або гідроксигетероарил, наприклад, 3-гідроксіізоксазоліл, 3-гідрокси-1-метилпіразоліл тощо.

Термін "кислотна функціональна група" означає групу (фрагмент), що включає кислотний атом водню. Прикладами кислотних функціональних груп є карбоксил (-C(O)OH), -C(O)-NHON, -C(O)-CH₂OH, -C(O)-CH₂SH, -C(O)-NH-CN, сульфогрупа, фосфонієва група, алкілсульфонілкарбамоїл, тетразоліл, арилсульфонілкарбамоїл, N-метоксикарбамоїл, гетероарил-сульфонілкарбамоїл, 3-гідрокси-3-циклобутен-1,2-діон, 3,5-діоксо-1,2,4-оксадіазолінідиль або гідроксигетероарил, наприклад, 3-гідроксіізоксазоліл, 3-гідрокси-1-метилпіразоліл, імідазоліл, меркаптогрупа тощо, а також певні гідроксильні похідні, наприклад, ароматичні гідроксильні похідні, наприклад, гідроксифеніл.

Термін "група захисту кислоти" означає легко відщеплювану групу, яка відома в галузі як група, здатна захистити кислотний водень карбоксильної групи від небажаного реагування при процедурах синтезу, наприклад, блокувати або захистити кислотну функціональну групу при виконанні реакцій за участю інших функціональних груп сполуки, і може бути селективно видалена (відщеплена). Такі групи захисту кислоти добре відомі обізнаним фахівцям і широко застосовуються для захисту карбоксильних груп, як описано в [патентах США №3,840,556 і №3,719,667], зміст яких включено до цього опису за посиланням. Приклади придатних груп захисту кислоти наведено в [монографії Гріна і Вутса "Групи захисту в органічній хімії" (T.W. Greene, P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Chemistry, John Wiley and Sons, 1991)]. До груп захисту

кислоти належить також лабільна при гідруванні група захисту кислоти згідно з поданим нижче означенням. Прикладами груп захисту кислоти є групи складних ефірів, які містять, наприклад, заміщені або не заміщені нижчі C_1 - C_8 алкіли, наприклад, метил, етил, трет-бутил, метоксиметил, метилтіометил, 2,2,2-трихлоретил тощо; тетрагідропіраніл, заміщений та не заміщений фенолалкіл, наприклад, бензил та його заміщені похідні, наприклад, алкоксибензил та нітробензил тощо; цинаміл, діалкіламіноалкіл, наприклад, діетиламіноетил тощо; триметилсиліл, заміщені та не заміщені амідні та гідразиди, наприклад, амідні та гідразиди N,N -диметиламіну, 7-нітроіндолу, гідразину, N -фенілгідразину тощо; ацилоксіалкільні групи, наприклад, півалоїлоксиметил, пропіонілоксиметил тощо; ароїлоксіалкіли, наприклад, бензоїлоксіетил тощо; алкокси-карбоніалкіли, наприклад, метоксикарбонілметил, циклогексилоксикарбоніл-метил тощо; алкоксикарбонілоксіалкіли, наприклад, трет-бутилокси-карбонілоксиметил тощо; алкоксикарбоніламіноалкіли, наприклад, трет-бутилокси-карбоніламінометил тощо; алкіламінокарбоніламіноалкіли, наприклад, метиламінокарбоніламінометил тощо; ациламіноалкіли, наприклад, ацетиламінометил тощо; гетероциклікарбонілоксіалкіли, наприклад, 4-метил-піперазиніл-карбонілоксиметил тощо; діалкіламінокарбоніалкіли, наприклад, диметиламінокарбонілметил тощо; (5-(нижчий алкіл)-2-оксо-1,3-діоксолен-4-іл)-алкіли, наприклад, (5-треот-бутил-2-оксо-1,3-діоксолен-4-іл)-метил тощо; і (5-феніл-2-оксо-1,3-діоксолен-4-іл)-алкіли, наприклад, (5-феніл-2-оксо-1,3-діоксолен-4-іл)-метил тощо.

Термін "кислотнo-лабільна група захисту аміну" означає групу захисту аміну згідно з визначенням, поданим нижче, яка легко відщеплюється під впливом кислоти, але є порівняно стійкою до дії інших реагентів. Кислотнo-лабільною групою захисту аміну, якій віддається перевага, є група BOC .

Термін "аліфатична група" означає алкіл, алкеніл або алкініл згідно з поданими нижче визначеннями.

Термін "замісник при аліфатичній групі" означає замісник, приєднаний до аліфатичної групи згідно з поданим визначенням, в тому числі арил, гетероарил, гідроксил, алкоксигрупу, циклілоксигрупу, арилоксигрупу, гетероариллоксигрупу, ацил або його тіоксоаналог, циклокарбоніл або його тіоксоаналог, ароїл або його тіоксоаналог, гетероароїл або його тіоксоаналог, ацилоксигрупу, циклілкарбонілоксигрупу, ароїлоксигрупу, гетероароїл-оксигрупу, галоїд, нітро-, ціаногрупу, карбоксил (кислоту), $-C(O)-NHON$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, сульфогрупу, фосфонієву групу, алкілсульфонілкарбамоїл, тетразоліл, арилсульфонілкарбамоїл, N -метокси-карбамоїл, гетероарил-сульфонілкарбамоїл, 3-гідрокси-3-циклобутен-1,2-діон, 3,5-діоксо-1,2,4-оксадіазолідиніл або гідроксигетероарил, наприклад, 3-гідроксіізоксазоліл, 3-гідрокси-1-метилпіразоліл, алкілоксикарбоніл, циклілоксикарбоніл, арилоксикарбоніл, гетероарилоксикарбоніл, алкілсульфоніл, циклілсульфоніл, арилсульфоніл, гетероарилсульфоніл, алкілсульфініл, циклілсульфініл, арилсульфініл, гетероарилсульфініл, алкілтіогрупу, циклілтіогрупу, арилтіогрупу, гетероарилтіогрупу, цикліл, арилдіазогрупу, гетероарилдіазогрупу, тіол, метилен ($H_2C=$), оксогрупу ($O=$), тіоксогрупу ($S=$), Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$, $Y^1Y^2NSO_2-$ або $Y^3SO_2NY^1-$, кожен з Y^1 та Y^2 незалежно від іншого є водень, алкіл, арил або гетероарил, а Y^3 є алкіл, циклоалкіларил або гетероарил, або в разі якщо замісником є група Y^1Y^2N- , то один з Y^1 та Y^2 може бути ацил, циклілкарбоніл, ароїл, гетероароїл, алкоксикарбоніл, циклілоксикарбоніл, арилоксикарбоніл або гетероарилоксикарбоніл згідно з поданим у цьому описі визначенням, а інший з Y^1 та Y^2 відповідає поданому вище визначенню; або, в разі, якщо замісником є $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ або $Y^1Y^2NSO_2-$, то Y^1 та Y^2 спільно з атомом азоту, до якого вони приєднані, можуть утворювати азагетероциклі або азагетероциклініл із кількістю членів від 4 до 7. Кислотними або амідними замісниками при аліфатичній групі є карбоксил (кислота), $-C(O)-NHON$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, сульфогрупа, фосфонієва група, алкілсульфонілкарбамоїл, тетразоліл, арилсульфонілкарбамоїл, N -метокси-карбамоїл, гетероарил-сульфонілкарбамоїл, 3-гідрокси-3-циклобутен-1,2-діон, 3,5-діоксо-1,2,4-оксадіазолідиніл або гідроксигетероарил, наприклад, 3-гідроксіізоксазоліл, 3-гідрокси-1-метилпіразоліл, та група $Y^1Y^2NC(O)-$. Некислотними полярними замісниками при аліфатичній групі є гідроксил, оксогрупа ($O=$), тіоксогрупа ($S=$), ацил або його тіоксоаналог, циклілкарбоніл або його тіоксоаналог, ароїл або його тіоксоаналог, гетероароїл або його тіоксоаналог, алкоксикарбоніл, циклілоксикарбоніл, арилоксикарбоніл, гетероарилоксикарбоніл, ацилоксигрупа, циклілкарбонілоксигрупа, ароїлоксигрупа, гетероароїл-оксигрупа, алкіл сульфоніл, циклілсульфоніл, арилсульфоніл, гетероарилсульфоніл, алкілсульфініл, циклілсульфініл, арилсульфініл, гетероарилсульфініл, тіол, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ або $Y^1Y^2NSO_2-$. Прикладами аліфатичних груп, що мають замісники при аліфатичній групі, є метоксиметоксигрупа, метоксіетоксигрупа, етоксіетоксигрупа, (метокси-, бензилокси-, бензилокси- або етокси-)карбоніл (метил або етил), бензилоксикарбоніл, піридилметилокси-карбонілметил, метоксіетил, етоксиметил, n -бутоксиметил, циклопентилметилоксіетил, феноксипропіл, феноксіаліл, трифторметил, циклопропіл-метил, циклопентил-метил, карбокси(метил або етил), 2-фенетеніл, бензилоксигрупа, 1- або 2-нафтилметоксигрупа, 4-піриділметоксигрупа, бензилоксіетил, 3-бензилоксіаліл, 4-піридилметил-оксіетил, 4-піридилметил-оксіаліл, бензил, 2-фенетил, нафтилметил, стирил, 4-феніл-1,3-пентадієніл, фенілпропініл, 3-фенілбут-2-ініл, піриділ-3-ілацетиленіл та хінолін-3-ацетиленіл, 4-піридил-етиніл, 4-піридилвініл, тієнілетеніл, піриділетеніл, імідазоліл-етеніл, піразинілетеніл, піридилпентеніл, піридилгексеніл та піридилгептеніл, тієніл-метил, піридилметил, імідазолілметил, піразинілметил, тетрагідропіранілметил, тетрагідропіраніл-метилоксиметил тощо.

Термін "ацил" означає $H-CO$ -групу або (аліфатична група або цикліл)- CO -групу, де аліфатична група відповідає поданому визначенню. Ацили, яким віддається перевага, містять нижчий алкіл. Прикладами ацилів є форміл, ацетил, пропаноїл, 2-метилпропаноїл, бутаноїл, пальмітоїл, акрилоїл, пропіноїл, циклогексилкарбоніл тощо.

Термін "алкеноїл" означає алкеніл- CO -групу, де алкеніл відповідає поданому визначенню.

Термін "алкеніл" означає аліфатичну вуглеводневу групу, яка містить подвійний вуглець-вуглецевий зв'язок і може мати лінійну або розгалужену будову і включати від 2 до 15 вуглецевих атомів у ланцюжку. Перевага віддається алкенільним групам, які мають у ланцюжку від 2 до 12 вуглецевих атомів, а більша перевага - групам, що мають від 2 до 4 вуглецевих атомів. "Розгалужений" означає, що до лінійного алкенільного ланцюжка приєднані один або кілька нижчих алкілів, як, наприклад, метил, етил або пропіл. "Нижчий алкеніл" означає алкеніл, який містить від 2 до 4 вуглецевих атомів у ланцюжку, котрий може бути

лінійним або розгалуженим. Прикладами алкенільних груп є етеніл, пропеніл, н-бутеніл, ізобутеніл, 3-метилбут-2-еніл, н-пентеніл, гептеніл, октеніл, циклогексилбутеніл тощо. "Заміщений алкеніл" означає алкеніл згідно з поданим вище визначенням, заміщений одним або кількома "замісниками при аліфатичній групі" (переважно від 1 до 3), які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданому вище визначенню. Прикладами замісників при алкенільній групі є галоїд або циклоалкіл.

Термін "алкенілокси(група)" означає групу алкеніл-О-, де алкеніл відповідає поданому визначенню. Прикладами алкеніл оксигруп є алілоксигрупа, 3-бутенілоксигрупа тощо.

Термін "алкокси(група)" означає групу алкіл-О-, де алкіл відповідає поданому визначенню. Прикладами алкоксигруп є метоксигрупа, етоксигрупа, н-пропоксигрупа, ізопропоксигрупа, н-бутоксигрупа, гептоксигрупа тощо.

Термін "алкоксикарбоніл" означає групу алкіл-О-СО-, де алкіл відповідає поданому визначенню. Прикладами алкоксикарбонілів є метоксикарбоніл, етоксикарбоніл, трет-бутилоксикарбоніл тощо.

Термін "алкіл" означає аліфатичну вуглеводневу групу, яка може мати лінійну або розгалужену будову і включати від 1 до 20 вуглецевих атомів у ланцюжку. Перевага віддається алкільним групам, які мають у ланцюжку від 1 до 12 вуглецевих атомів, а більша перевага - нижчим алкілам згідно з поданим визначенням. "Розгалужений" означає, що до лінійного алкільного ланцюжка приєднані один або кілька нижчих алкілів, як, наприклад, метил, етил або пропіл. "Нижчий алкіл" означає алкіл, який містить від 1 до 4 вуглецевих атомів у ланцюжку, котрий може бути лінійним або розгалуженим. "Заміщений алкіл" означає алкіл згідно з поданим визначенням, заміщений одним або кількома "замісниками при аліфатичній групі" (у варіанті, якому віддається перевага, від 1 до 3), які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданому вище визначенню.

Термін "алкілсульфініл" означає групу алкіл-SO-, де алкіл відповідає поданому вище визначенню. Перевага віддається групам, де алкілом є нижчий алкіл.

Термін "алкілсульфоніл" означає групу алкіл-SO₂-, де алкіл відповідає поданому вище визначенню. Перевага віддається групам, де алкілом є нижчий алкіл.

Термін "алкілсульфонілкарбамоїл" означає групу алкіл-SO₂-NH-C(O=)-, де алкіл відповідає поданому вище визначенню. Перевага віддається алкілсульфонілкарбамоїлам, де алкілом є нижчий алкіл.

Термін "алкілтіо(група)" означає групу алкіл-S-, де алкіл відповідає поданому вище визначенню. Прикладами алкілтіогруп є метилтіогрупа, етилтіогрупа, ізопропілтіогрупа та гептилтіогрупа.

Термін "алкініл" означає аліфатичну вуглеводневу групу, яка містить потрібний вуглець-вуглецевий зв'язок і може мати лінійну або розгалужену будову і включати від 2 до 15 вуглецевих атомів у ланцюжку. Перевага віддається алкінільним групам, які мають у ланцюжку від 2 до 12 вуглецевих атомів, а більша перевага - групам, що мають від 2 до 4 вуглецевих атомів. "Розгалужений" означає, що до лінійного алкінільного ланцюжка приєднані один або кілька нижчих алкілів, як, наприклад, метил, етил або пропіл. "Нижчий алкініл" означає алкініл, який містить від 2 до 4 вуглецевих атомів у ланцюжку, котрий може бути лінійним або розгалуженим. Алкініл може бути заміщений одним або кількома атомами галоїдів. Прикладами алкінільних груп є етиніл, пропініл, н-бутиніл, 2-бутиніл, 3-метилбутиніл, н-пентиніл, гептиніл, октиніл, дециніл тощо. "Заміщений алкініл" означає алкініл згідно з поданим вище визначенням, заміщений одним або кількома "замісниками при аліфатичній групі" (переважно від 1 до 3), які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданому вище визначенню.

Термін "група захисту аміну" означає легко відщеплювану групу, яка відома в галузі як група, здатна захистити атом азоту аміно- або амідогрупи від небажаного реагування при процедурах синтезу і може бути селективно видалена (відщеплена). Застосування груп захисту аміну/аміду для захисту згаданих груп від небажаних реакцій в процесах синтезу добре відоме в галузі; відомі численні такі групи захисту, [дивись, наприклад, монографію Гріна і Вутса "Групи захисту в органічному синтезі" (T.W. Green, P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 2nd edition, John Wiley and Sons, New York, 1991)], відомості з якої включено до цього опису за посиланням. До груп захисту аміну/аміду належать також "кислотно-лабільна група захисту аміну/аміду" та "лабільна при гідруванні група захисту аміну/аміду". Прикладами груп захисту аміну/аміду є ацил, в тому числі форміл, ацетил, хлорацетил, трихлорацетил, о-нітрофенілацетил, о-нітрофеноксацетил, трифторацетил, ацетоацетил, 4-хлорбутирил, ізобутирил, о-нітроцинамоїл, піколіноїл, ацилізотіоціанат, амінокапроїл, бензоїл тощо, та ацилоксигрупи, в тому числі метоксикарбоніл, 9-флуоранілметоксикарбоніл, 2,2,2-трифторетоксикарбоніл, 2-триметилсиліл-етоксикарбоніл, вінілоксикарбоніл, алілоксикарбоніл, трет-бутил-оксикарбоніл (BOC), 1,1-диметил-пропінілоксикарбоніл, бензилоксикарбоніл (CBZ), п-нітробензилоксикарбоніл, 2,4-дихлорбензилоксикарбоніл тощо.

Термін "група захисту амідів" означає легко відщеплювану групу, яка відома в галузі як група, здатна захистити атом азоту амідогрупи від небажаного реагування при процедурах синтезу і може бути селективно видалена (відщеплена) після її перетворення в аміногрупу. Застосування груп захисту амідів для захисту згаданих груп від небажаних реакцій в процесах синтезу добре відоме в галузі; відомі численні такі групи захисту, [дивись, наприклад, монографію Гріна і Вутса "Групи захисту в органічному синтезі" (T.W. Green, P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 2nd edition, John Wiley and Sons, New York, 1991)], відомості з якої включено до цього опису за посиланням. До груп захисту амідів належать також "кислотно-лабільна група захисту амідів" та "лабільна при гідруванні група захисту амідів". Прикладами груп захисту амідів є о-нітроцинамоїл, піколіноїл, амінокапроїл, бензоїл тощо, та ацилоксигрупи, в тому числі метоксикарбоніл, 9-флуоранілметоксикарбоніл, 2,2,2-трифторетоксикарбоніл, 2-триметилсиліл-етоксикарбоніл, вінілоксикарбоніл, алілоксикарбоніл, трет-бутоксикарбоніл (BOC), 1,1-диметил-пропініл-оксикарбоніл, бензилокси-карбоніл (CBZ), п-нітробензилоксикарбоніл, 2,4-дихлорбензилоксикарбоніл тощо.

Термін "амінокислота" означає амінокислоту, до якої входять природні та неприродні амінокислоти згідно з поданим визначенням. Термін охоплює також амінокислоти, що мають стереохімічну L- або D-конфігурацію при α-атомі вуглецю. Перевага віддається амінокислотам, які містять α-аміногрупу. Амінокислоти можуть бути нейтральними, позитивними або негативними, залежно від замісників у боковому ланцюжку. "Нейтральна амінокислота" означає амінокислоту, що містить у боковому ланцюжку не заряджені замісники. Прикладами нейтральних амінокислот є аланін, валін, лейцин, ізолейцин, пролін, фенілаланін, триптофан, метіонін, гліцин, серин, треонін та цистеїн. "Позитивна амінокислота" означає

амінокислоту, що містить у боковому ланцюжку замісники, які при фізіологічному значенні pH мають позитивний заряд. Прикладами позитивних амінокислот є лізин, аргінін та гістидин. "Негативна амінокислота" означає амінокислоту, що містить у боковому ланцюжку замісники, які при фізіологічному значенні pH мають негативний заряд. Прикладами негативних амінокислот є аспарагінова кислота і глутамінова кислота. Перевага серед амінокислот віддається α -амінокислотам. Прикладами природних амінокислот є ізолейцин, пролін, фенілаланін, триптофан, метіонін, гліцин, серин, треонін, цистеїн, тирозин, аспарагін, глутамін, лізин, аргінін, гістидин, аспарагінова кислота і глутамінова кислота. "Неприродна амінокислота" означає амінокислоту, для якої не існує кодону в нуклеїновій кислоті. Прикладами неприродних амінокислот є, наприклад, D-ізомери природних α -амінокислот згідно з поданим вище визначенням; Aib (аміномасляна кислота), β Aib (3-аміноізомасляна кислота), Nva (норвалін), β -Ala, Aad (2-аміноадипінова кислота), β Aad (3-аміноадипінова кислота), Abu (2-аміномасляна кислота), Gaba (γ -аміномасляна кислота), Asp (6-амінокапронова кислота), Dbu (2,4-діаміномасляна кислота), α -амінопімелінова кислота, TMSA (триметилсиліл-Ala), alle (алло-ізолейцин), Nle (норлейцин), tert-Leu, Cit (цитрулін), Orn, Dpm (2,2'-діамінопімелінова кислота), Dpr (2,3-діамінопропіонова кислота), α - або β -Nal, Cha (циклогексил-Ala), гідроксипролін, Sar (саркозин) тощо; циклічні амінокислоти; N^a -алкіловані амінокислоти, наприклад, MeGly (N^a -метилгліцин), EtGly (N^a -етилгліцин) та EtAsn (N^a -етиласпарагін); і амінокислоти, в яких α -атом вуглецю несе два бокових замісники. Назви природних та неприродних амінокислот та їх залишків, вжиті в цьому описі, відповідають угоді про номенклатуру, запропонованій Комісією з номенклатури органічних сполук IUPAC та Комісією IUPAC-IUB по біохімічній номенклатурі, опубліковані в [роботі "Номенклатура α -амінокислот (рекомендації 1974р.)" ("Nomenclature of α -Amino Acids (Recommendations, 1974)" Biochemistry, 14(2), 1975)]. У випадках, коли назви та аббревіатури амінокислот та їх залишків, вжиті в цьому описі та формулі винаходу, відрізняються від вищезгаданих, такі назви та аббревіатури спеціально пояснюються.

Термін "група захисту амінокислоти" означає групу, яка захищає кислотну групу або аміногрупу чи інший реакційноздатний фрагмент у боковому ланцюжку амінокислоти, наприклад, гідроксил або тіол. Приклади "відповідних захищених похідних" бокових ланцюжків амінокислот подано в [монографії Гріна і Вутса "Групи захисту в органічній хімії" (T.W. Green, P.G.M. Wills, Protective Groups in Organic Chemistry, John Wiley and Sons, 1991)]. Групи захисту кислотної групи в амінокислотах описано, наприклад, при поясненнях термінів "кислотна функціональна група" та "лабільна при гідруванні група захисту кислоти". Групи захисту аміногрупи в амінокислотах описано, наприклад, при поясненнях термінів "група захисту аміну", "кисотно-лабільна група захисту аміну" та "лабільна при гідруванні група захисту аміну".

Термін "залишок амінокислоти" означає індивідуальні амінокислотні одиниці, що входять до складу молекули сполуки, наданого цим винаходом.

Термін "боковий ланцюжок амінокислоти" означає замісник, приєднаний до атома вуглецю, розташованого між аміногрупою та карбоксилем молекули α -амінокислоти. Прикладами бокових ланцюжків амінокислот в валіні, аланіні та аспарагіновій кислоті є відповідно ізопропіл, метил і карбоксиметил.

Термін "амінокислотний еквівалент" означає амінокислоту, якою може бути замінена інша амінокислота в пептидах згідно з цим винаходом без помітної втрати функції сполуки. При виконанні таких заміन аналогічні амінокислоти вибираються на основі відносної подібності замісників у бокових ланцюжках, наприклад, з урахуванням розміру, заряду, гідрофільності, гідролітичності та гідрофобності згідно з поданими визначеннями.

Термін "ароматична група" означає арил або гетероарил згідно з поданими визначеннями. Прикладами ароматичних груп є феніл, галоїдзаміщений феніл, азагетероарил тощо.

Термін "ароїл" означає групу арил-CO-, де арил відповідає поданому визначенню. Прикладами ароїлів є бензоїл, 1- та 2-нафтоїли тощо.

Термін "арил" означає ароматичну моноциклічну або поліциклічну систему, що містить від 6 до 14 вуглецевих атомів, у варіанті, якому віддається перевага, від 6 до 10 вуглецевих атомів. Термін охоплює конденсований арилциклоалкеніл, конденсований арилциклоалкіл, конденсований арилгетероцикленіл та конденсований арилгетероцикліл згідно з поданими в цьому описі визначеннями, якщо вони з'єднані з іншими фрагментами молекули через свій арильний фрагмент. Арил може бути факультативно заміщений одним або кількома "замісниками при циклічній групі", які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданим визначенням. Прикладами арилів є феніл або нафтил, або заміщений феніл чи нафтил. "Заміщений арил" означає арил згідно з поданим вище визначенням, заміщений одним або кількома (переважно від 1 до 3) "замісниками при циклічній групі", які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданим визначенням.

Термін "арилдіазо(група)" означає арилдіазогрупу, де арил і діазогрупа відповідають поданим визначенням.

Термін "арилен" означає факультативно заміщений двовалентний 1,2-, 1,3- або 1,4- арил згідно з поданим визначенням. Прикладами ариленів є факультативно заміщені фенілен, нафтилен та інданілен. Конкретним ариленом є факультативно заміщений фенілен. "Заміщений арилен" означає арилен згідно з поданим вище визначенням, заміщений одним або кількома (переважно від 1 до 3) "замісниками при циклічній групі", які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданим визначенням.

Термін "арилокси(група)" означає групу арил-O-, де арил відповідає поданому вище визначенню. Прикладами арилоксигруп є феноксигрупа та 2-нафтилоксигрупа.

Термін "арилоксикарбоніл" означає групу арил-O-CO-, де арил відповідає поданому вище визначенню. Прикладами арилоксикарбонілів є феноксикарбоніл та нафтоксикарбоніл.

Термін "арилсульфоніл" означає групу арті-SO₂-, де арил відповідає поданому вище визначенню.

Термін "арилсульфонілкарбамоїл" означає групу арті-SO₂-NH-C(=O)-, де арил відповідає поданому вище визначенню. Прикладом арилсульфоніл-карбамоїлу є фенілсульфонілкарбамоїл.

Термін "арилсульфініл" означає групу арил-SO-, де арил відповідає поданому вище визначенню.

Термін "арилтіюгрупа" означає групу арил-S-, де арил відповідає поданому вище визначенню. Прикладами арилтіюгруп є фенілтіюгрупа та нафтилтіюгрупа.

Термін "основний атом азоту" означає sp^2 - або sp^3 -гібридизований атом азоту, який має незв'язану пару електронів, здатну до протонування. Прикладами основних атомів азоту є атоми азоту, що входять до складу факультативно заміщених іміногруп, факультативно заміщених аміногруп та факультативно заміщених амідиногруп.

Термін "карбоксил (карбоксигрупа)" означає групу $\text{HO}(\text{O})\text{C}$ - (функціональну групу карбонової кислоти).

Термін "агент сполучення" означає сполуку, яка вступає в реакцію з гідроксильним фрагментом карбоксилу, надаючи йому здатність піддаватися нуклеофільній атаці. Прикладами агентів сполучення є 1,3-діізопропілкарбодіілід (ДІК), дициклокарбодіілід (ДЦК), гідрохлорид 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)-карбодііліду (ЕДДК-НСІ) тощо.

Термін "циклоалкеніл" означає неароматичну моноциклічну або поліциклічну систему, що містить від 3 до 10 вуглецевих атомів, переважно від 5 до 10 вуглецевих атомів, і має у своєму складі щонайменше один подвійний вуглець-вуглецевий зв'язок. Термін охоплює конденсований арилциклоалкеніл та конденсований гетероарилциклоалкеніл згідно з поданими в цьому описі визначеннями, якщо вони з'єднані з іншими фрагментами молекули через свій циклоалкенільний фрагмент. Перевага віддається системам, де кожний цикл містить 5 або 6 вуглецевих атомів; такі цикли позначаються також означенням "нижчий". "Заміщений циклоалкеніл" означає циклоалкеніл згідно з поданим вище визначенням, заміщений одним або кількома (переважно від 1 до 3) "замісниками при циклічній групі", які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданим визначенням. Прикладами моноциклічних циклоалкенілів є циклопентеніл, циклогексеніл, циклогептеніл тощо. Прикладом поліциклічного циклоалкенілу є норборніленіл.

Термін "циклоалкіл" означає неароматичну моноциклічну або поліциклічну систему, що містить від 3 до 10 вуглецевих атомів, переважно від 5 до 10 вуглецевих атомів. Перевага віддається системам, де кожний цикл містить 5 або 6 вуглецевих атомів; такі цикли позначаються також означенням "нижчий". Термін охоплює конденсований арилциклоалкіл та конденсований гетероарилциклоалкіл згідно з поданими в цьому описі визначеннями, якщо вони з'єднані з іншими фрагментами молекули через свій циклоалкільний фрагмент. "Заміщений циклоалкіл" означає циклоалкіл згідно з поданим вище визначенням, заміщений одним або кількома (у варіанті, якому віддається перевага, від 1 до 3) "замісниками при циклічній групі", які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданим визначенням. Прикладами моноциклічних циклоалкілів є циклопентил, циклогексил, циклогептил тощо. Прикладами поліциклічних циклоалкілів є 1-декалін, норборніл, адамант(1-або 2-)іл тощо.

Термін "циклоалкілен" означає двовалентний циклоалкіл згідно з поданим вище визначенням, що містить від 4 до 8 атомів вуглецю. Перевага віддається системам, де цикл містить 5 або 6 вуглецевих атомів; такі цикли позначаються також означенням "нижчий". Місця приєднання циклоалкілену можуть бути взаємно розташовані за схемами 1,1-, 1,2-, 1,3- або 1,4-, а стереохімічне взаємне розташування місць приєднання може відповідати або цис-, або транс-схемі. Прикладами циклоалкіленів є (1,1-, 1,2- або 1,3-)-циклогексилен та (1,1- або 1,2-)-циклопентилен. "Заміщений циклоалкілен" означає циклоалкілен згідно з поданим вище визначенням, заміщений одним або кількома (переважно від 1 до 3) "замісниками при циклічній групі", які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданим визначенням.

Терміни "циклічна група" або "цикліл" означають циклоалкіл, циклоалкеніл, гетероцикліл або гетероциклілен згідно з поданими визначеннями. Термін "нижчий" в сполученні з термінами "циклічна група" або "цикліл" має те ж значення, яке вказано стосовно до циклоалкілу, циклоалкенілу, гетероциклілу або гетероциклілену.

Термін "циклілокси(група)" означає групу $\text{цикліл}-\text{O}-$, де цикліл відповідає поданому визначенню. Прикладами циклоалкоксигруп є циклопентилоксигрупа, циклогексилоксигрупа, хінуклідилоксигрупа, пентаметилсульфідоксигрупа, тетрагідропіранілоксигрупа, тетрагідро-тіофенілоксигрупа, піролідинілоксигрупа, тетрагідрофуранілоксигрупа, або 7-оксабіцикло[2.2.1]гептаніл-оксигрупа, гідрокситетрагідропіранілоксигрупа, гідрокси-7-оксабіцикло-[2.2.1]гептаніл-оксигрупа тощо.

Термін "циклілсульфініл" означає групу $\text{цикліл}-\text{S}(\text{O})-$, де цикліл відповідає поданому визначенню.

Термін "циклілсульфоніл" означає групу $\text{цикліл}-\text{S}(\text{O})_2-$, де цикліл відповідає поданому визначенню.

Термін "циклілітіо(група)" означає групу $\text{цикліл}-\text{S}-$, де цикліл відповідає поданому визначенню.

Термін "діазо(група)" означає двовалентний радикал $-\text{N}=\text{N}-$.

Термін "заміщувана група" означає групу, яка, будучи приєднаною до L згідно з поданим визначенням, може бути заміщена при нуклеофільній атаці моно- або двозаміщеною аміногрупою в присутності або відсутності агента, який полегшує згадану атаку, тобто, агента сполучення. Прикладами заміщуваних груп є гідроксил, аліфатична оксигрупа, галоїд, N-оксисукцинілід, ацилоксигрупа тощо.

Термін "ефективна кількість" означає кількість сполуки або композиції згідно з цим винаходом, яка спричиняє бажаний терапевтичний ефект.

Термін "конденсований арилциклоалкеніл" означає конденсовані один з одним арил і циклоалкеніл згідно з поданими визначеннями. Перевага віддається конденсованим арилциклоалкенілам, де арилом є феніл, а циклоалкеніл містить 5 або 6 атомів у циклі. Конденсований арилциклоалкеніл як змінний фрагмент може бути приєднаним до решти молекули через будь-який атом своєї циклічної системи, здатний утворювати відповідний зв'язок. "Заміщений конденсований арилциклоалкеніл" означає конденсований арилциклоалкеніл згідно з поданим вище визначенням, заміщений одним або кількома (переважно від 1 до 3) "замісниками при циклічній групі", які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданим визначенням. Прикладами конденсованих арилциклоалкенілів є 1,2-дигідронафтилен, інден тощо.

Термін "конденсований арилциклоалкіл" означає конденсовані один з одним арил і циклоалкіл згідно з поданими визначеннями. Перевага віддається конденсованим арилциклоалкілам, де арилом є феніл, а циклоалкіл містить 5 або 6 атомів у циклі. Конденсований арилциклоалкіл як змінний фрагмент може бути приєднаним до решти молекули через будь-який атом своєї циклічної системи, здатний утворювати відповідний зв'язок. "Заміщений конденсований арилциклоалкіл" означає конденсований арилциклоалкіл згідно з поданим вище визначенням, заміщений одним або кількома (переважно від 1 до 3) "замісниками при циклічній групі", які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданим визначенням. Прикладом конденсованого арилциклоалкілу є 1,2,3,4-тетрагідронафтил.

Термін "конденсований арилгетероцикленіл" означає конденсовані один з одним арил і гетероцикленіл згідно з поданими визначеннями. Перевага віддається конденсованим арилгетероцикленілам, де арилом є феніл, а гетероцикленіл містить 5 або 6 атомів у циклі. Конденсований арилгетероцикленіл як змінний фрагмент може бути приєднаним до решти молекули через будь-який атом своєї циклічної системи, здатний утворювати відповідний зв'язок. Префікси "аза", "окса" або "тіа" перед назвою гетероцикленільної частини конденсованого арилгетероцикленілу означають, що в циклі присутній щонайменше один атом відповідно азоту, кисню або сірки. "Заміщений конденсований арилгетероцикленіл" означає конденсований арилгетероцикленіл згідно з поданим вище визначенням, заміщений одним або кількома (переважно від 1 до 3) "замісниками при циклічній групі", які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданим визначенням. Атом азоту в конденсованому арилгетероцикленілі може бути основним атомом азоту. Атоми азоту або сірки в гетероцикленільній частині конденсованого арилгетероцикленілу можуть також бути факультативно окиснені до відповідного N-оксиду, S-оксиду або S,S-діоксиду. Прикладами конденсованих арилгетероцикленілів є 3H-індолініл, 1H-2-оксохіноліл, 2H-1-оксоізохіноліл, 1,2-дигідрохінолініл, 3,4-дигідрохінолініл, 1,2-дигідроізохінолініл, 3,4-дигідроізохінолініл тощо.

Термін "конденсований арилгетероцикліл" означає конденсовані один з одним арил і гетероцикліл згідно з поданими визначеннями. Перевага віддається конденсованим арилгетероциклілам, де арилом є феніл, а гетероцикліл містить 5 або 6 атомів у циклі. Конденсований арилгетероцикліл як змінний фрагмент може бути приєднаним до решти молекули через будь-який атом своєї циклічної системи, здатний утворювати відповідний зв'язок. Префікси "аза", "окса" або "тіа" перед назвою гетероциклільної частини конденсованого арилгетероциклілу означають, що в циклі присутній щонайменше один атом відповідно азоту, кисню або сірки. "Заміщений конденсований арилгетероцикліл" означає конденсований арилгетероцикліл згідно з поданим вище визначенням, заміщений одним або кількома (переважно від 1 до 3) "замісниками при циклічній групі", які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданим визначенням. Атом азоту в конденсованому арилгетероциклілі може бути основним атомом азоту. Атоми азоту або сірки в гетероциклільній частині конденсованого арилгетероциклілу можуть також бути факультативно окиснені до відповідного N-оксиду, S-оксиду або S,S-діоксиду. Прикладами конденсованих арилгетероциклілів є індолініл, 1,2,3,4-тетрагідроізохінолініл, 1,2,3,4-тетрагідрохінолініл, 1H-2,3-дигідроізоіндол-2-іл, 2,3-дигідробенз[*f*]ізоіндол-2-іл, 1,2,3,4-тетрагідробенз[*g*]-ізохінолін-2-іл тощо.

Термін "конденсований гетероарилциклоалкеніл" означає конденсовані один з одним гетероарил і циклоалкеніл згідно з поданими визначеннями. Перевага віддається конденсованим гетероарилциклоалкенілам, де гетероарилом є феніл, а циклоалкеніл містить 5 або 6 атомів у циклі. Конденсований гетероарилциклоалкеніл як змінний фрагмент може бути приєднаним до решти молекули через будь-який атом своєї циклічної системи, здатний утворювати відповідний зв'язок. Префікси "аза", "окса" або "тіа" перед назвою гетероарильної частини конденсованого гетероарилциклоалкенілу означають, що в циклі присутній щонайменше один атом відповідно азоту, кисню або сірки. "Заміщений конденсований гетероарилциклоалкеніл" означає конденсований гетероарилциклоалкеніл згідно з поданим вище визначенням, заміщений одним або кількома (переважно від 1 до 3) "замісниками при циклічній групі", які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданим визначенням. Атом азоту в конденсованому гетероарилциклоалкенілі може бути основним атомом азоту. Атом азоту в гетероарильній частині конденсованого гетероарилциклоалкенілу може також бути факультативно окиснений до відповідного N-оксиду. Прикладами конденсованих гетероарилциклоалкенілів є 5,6-дигідрохіноліл, 5,6-дигідроізохіноліл, 5,6-дигідроксиналініл, 5,6-дигідроксиназолініл, 4,5-дигідро-1H-бензімідазоліл, 4,5-дигідробензоксазоліл тощо.

Термін "конденсований гетероарилциклоалкіл" означає конденсовані один з одним гетероарил і циклоалкіл згідно з поданими визначеннями. Перевага віддається конденсованим гетероарилциклоалкілам, де гетероарил містить 5 або 6 атомів у циклі і циклоалкіл містить 5 або 6 атомів у циклі. Конденсований гетероарилциклоалкіл як змінний фрагмент може бути приєднаним до решти молекули через будь-який атом своєї циклічної системи, здатний утворювати відповідний зв'язок. Префікси "аза", "окса" або "тіа" перед назвою гетероарильної частини конденсованого гетероарилциклоалкілу означають, що в циклі присутній щонайменше один атом відповідно азоту, кисню або сірки. "Заміщений конденсований гетероарилциклоалкіл" означає конденсований гетероарилциклоалкіл згідно з поданим вище визначенням, заміщений одним або кількома (переважно від 1 до 3) "замісниками при циклічній групі", які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданим визначенням. Атом азоту в конденсованому гетероарилциклоалкілі може бути основним атомом азоту. Атом азоту в гетероарильній частині конденсованого гетероарилциклоалкілу може також бути факультативно окиснений до відповідного N-оксиду. Прикладами конденсованих гетероарилциклоалкілів є 5,6,7,8-тетрагідрохінолініл, 5,6,7,8-тетрагідроізохіноліл, 5,6,7,8-тетрагідроксиналініл, 5,6,7,8-тетрагідроксиназоліл, 4,5,6,7-тетрагідро-1H-бензімідазоліл, 4,5,6,7-тетрагідробензоксазоліл, 1H-4-окса-1,5-діазанафталін-2-оніл, 1,3-дигідроімідзол-[4,5]-піридин-2-оніл тощо.

Термін "конденсований гетероарилгетероцикленіл" означає конденсовані один з одним гетероарил і гетероцикленіл згідно з поданими визначеннями. Перевага віддається конденсованим гетероарилгетероцикленілам, де гетероарил містить 5 або 6 атомів у циклі і гетероцикленіл містить 5 або 6 атомів у циклі. Конденсований гетероарилгетероцикленіл як змінний фрагмент може бути приєднаним до решти молекули через будь-який атом своєї циклічної системи, здатний утворювати відповідний зв'язок. Префікси "аза", "окса" або "тіа" перед назвою гетероарильної або гетероцикленільної частини конденсованого гетероарилгетероцикленілу означають, що в циклі присутній щонайменше один атом відповідно азоту, кисню або сірки. "Заміщений конденсований гетероарилгетероцикленіл" означає конденсований гетероарилгетероцикленіл згідно з поданим вище визначенням, заміщений одним або кількома (переважно від 1 до 3) "замісниками при циклічній групі", які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданим визначенням. Атом азоту в конденсованому гетероарилазгетероцикленілі може бути основним атомом азоту. Атоми азоту або сірки в гетероарильній або гетероцикленільній частині конденсованого гетероарилгетероцикленілу можуть також бути факультативно окиснені до відповідного N-оксиду, S-оксиду або S,S-діоксиду. Прикладами конденсованих гетероарилгетероцикленілів є 7,8-

дигідро[1,7]-нафтиридиніл, 1,2-дигідро[2,7]-нафтиридиніл, 6,7-дигідро-3H-імідазо[4,5-c]пірвдил, 1,2-дигідро-1,5-нафтиридиніл, 1,2-дигідро-1,6-нафтиридиніл, 1,2-дигідро-1,7-нафтиридиніл, 1,2-дигідро-1,8-нафтиридиніл, 1,2-дигідро-2,6-нафтиридиніл тощо.

Термін "конденсований гетероарилгетероцикліл" означає конденсовані один з одним гетероарил і гетероцикліл згідно з поданими визначеннями. Перевага віддається конденсованим гетероарилгетероциклілам, де гетероарил містить 5 або 6 атомів у циклі і гетероцикліл містить 5 або 6 атомів у циклі. Конденсований гетероарилгетероцикліл як змінний фрагмент може бути приєднаним до решти молекули через будь-який атом своєї циклічної системи, здатний утворювати відповідний зв'язок. Префікси "аза", "окса" або "тіа" перед назвою гетероарильної або гетероциклільної частини конденсованого гетероарилгетероциклілу означають, що в циклі присутній щонайменше один атом відповідно азоту, кисню або сірки. "Заміщений конденсований гетероарилгетероцикліл" означає конденсований гетероарилгетероцикліл згідно з поданим вище визначенням, заміщений одним або кількома (переважно від 1 до 3) "замісниками при циклічній групі", які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданим визначенням. Атом азоту в конденсованому гетероарилгетероциклілі може бути основним атомом азоту. Атоми азоту або сірки в гетероарильній або гетероциклільній частині конденсованого гетероарилгетероциклілу можуть також бути факультативно окиснені до відповідного N-оксиду, S-оксиду або S,S-діоксиду. Прикладами конденсованих гетероарилгетероциклілів є 2,3-дигідро-1H-пірол[3,4-b]хінолін-2-іл, 1,2,3,4-тетрагідробенз[b][1,7]нафтиридин-2-іл, 1,2,3,4-тетрагідробенз[b]-[1,6]нафтиридин-2-іл, 1,2,3,4-тетрагідро-9H-піrido[3,4-b]індол-2-іл, 1,2,3,4-тетрагідро-9H-піrido[4,3-b]індол-2-іл, 2,3-дигідро-1H-піроло[3,4-b]індол-2-іл, 1H-2,3,4,5-тетрагідроазепіно[3,4-b]індол-2-іл, 1H-2,3,4,5-тетрагідроазепіно[4,3-b]індол-2-іл, 1H-2,3,4,5-тетрагідроазепіно[4,5-b]індол-2-іл, 5,6,7,8-тетрагідро[1,7]нафтиридин, 1,2,3,4-тетрагідро[2,7]нафтиридин, 2,3-дигідро[1,4]-діоксина[2,3-b]піридин, 3,4-дигідро-2H-1-окса[4,6]діазанафталініл, 4,5,6,7-тетрагідро-3H-імідазо[4,5-c]піридин, 6,7-дигідро[5,8]діазанафталініл, 1,2,3,4-тетрагідро[1,5]нафтиридиніл, 1,2,3,4-тетрагідро[1,6]нафтиридиніл, 1,2,3,4-тетрагідро[1,7]нафтиридиніл, 1,2,3,4-тетрагідро[1,8]нафтиридиніл, 1,2,3,4-тетрагідро[2,6]нафтиридиніл тощо.

Термін "галогід" означає фтор, хлор, бром або йод. Перевага віддається фтору, хлору або бромові, більша перевага - фтору або хлору.

Термін "гетероарил" означає групу гетероарил-CO-, де гетероарил відповідає поданому визначенню. Прикладами гетероарилів є тіофеноіл, нікотиноіл, пірол-2-ілкарбоніл, 1-і 2-нафтоіл, піридиноіл тощо.

Термін "гетероарил" означає ароматичну моноциклічну або поліциклічну систему, що містить від 5 до 14 вуглецевих атомів, у варіанті, якому віддається перевага, від 5 до 10 вуглецевих атомів, причому один або кілька атомів у згаданій циклічній системі є атомами гетероелементів, відмінних від вуглецю, наприклад, азоту, кисню або сірки. Перевага віддається циклічним системам, що містять від 1 до 3 гетероатомів. Перевага віддається циклічним системам, де кожний цикл містить 5 або 6 атомів. Термін охоплює конденсований гетероарилциклоалкеніл, конденсований гетероарилциклоалкіл, конденсований гетероарилгетероцикленіл та конденсований гетероарилгетероцикліл згідно з поданими в цьому описі визначеннями, якщо вони з'єднані з іншими фрагментами молекули через свій гетероарильний фрагмент. "Заміщений гетероарил" означає гетероарил згідно з поданим вище визначенням, заміщений одним або кількома (переважно від 1 до 3) "замісниками при циклічній групі", які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданим визначенням. Префікси "аза", "окса" або "тіа" перед назвою гетероарилу означають, що в циклі присутній щонайменше один атом відповідно азоту, кисню або сірки. Атом азоту в гетероарилі може бути основним атомом азоту, а також може бути факультативно окиснений до відповідного N-оксиду. Прикладами гетероарилів та заміщених гетероарилів є піразиніл, тієніл, ізотіазоліл, оксазоліл, піразоліл, фуразаніл, піроліл, 1,2,4-тіадіазоліл, піридазиніл, хіноксалініл, фталазиніл, імідазо[1,2-a]піридин, імідазо[2,1-b]тіазоліл, бензофуразаніл, азаіндоліл, бензімідазоліл, бензотієніл, тієнопіридин, тієнопіримідил, піролопіридин, імідазопіридин, бензоазаіндоліл, 1,2,4-тріазиніл, бензтіазоліл, фураніл, імідазоліл, індоліл, індолізиніл, ізоксазоліл, ізохінолініл, ізотіазоліл, оксадіазоліл, піридин, піримідиніл, хіназолініл, хінолініл, 1,3,4-тіадіазоліл, тіазоліл, триазоліл тощо. Перевага серед гетероарилів віддається піразинілу.

Термін "гетероарилдіазо(група)" означає гетероарилазогрупу, де гетероарил і азогрупа відповідають поданим визначенням.

Термін "гетероарилдііл" означає двовалентний радикал гетероарилу, де гетероарил відповідає поданому визначенню. Прикладом гетероарилдіілу є факультативно заміщений піридинділ.

Термін "гетероарилсульфонілкарбамоїл" означає групу гетероарил-SO₂-NH-C(=O)-, де гетероарил відповідає поданому вище визначенню.

Термін "гетероцикленіл" означає неароматичну моноциклічну або поліциклічну систему, що містить від 3 до 10 вуглецевих атомів, у варіанті, якому віддається перевага, від 5 до 10 вуглецевих атомів, причому один або кілька атомів у згаданій циклічній системі є атомами гетероелементів, відмінних від вуглецю, наприклад, азоту, кисню або сірки, і має у своєму складі щонайменше один подвійний вуглець-вуглецевий або подвійний азот-вуглецевий зв'язок. Перевага віддається циклічним системам, що містять від 1 до 3 гетероатомів. Перевага віддається циклічним системам, де кожний цикл містить 5 атомів або 6 атомів; такі цикли позначаються також означенням "нижчий". Термін охоплює конденсований арилгетероцикленіл та конденсований гетероарилгетероцикленіл згідно з поданими в цьому описі визначеннями, якщо вони з'єднані з іншими фрагментами молекули через свій гетероцикленільний фрагмент. Префікси "аза", "окса" або "тіа" перед назвою гетероцикленілу означають, що в циклі присутній щонайменше один атом відповідно азоту, кисню або сірки. "Заміщений гетероцикленіл" означає гетероцикленіл згідно з поданим вище визначенням, заміщений одним або кількома (переважно від 1 до 3) "замісниками при циклічній групі", які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданим визначенням. Атом азоту в гетероцикленілі може бути основним атомом азоту. Атоми азоту або сірки в гетероцикленілі можуть також бути факультативно окиснені до відповідного N-оксиду, S-оксиду або S,S-діоксиду. Прикладами моноциклічних азогетероцикленілів є 1,2,3,4-тетрагідропіридин, 1,2-дигідропіридин, 1,4-дигідропіридин, 1,2,3,6-тетрагідропіридин, 1,4,5,6-тетрагідропіримідиніл, 2-піролініл, 3-піролініл, 2-імідазолініл, 2-піразолініл тощо. Прикладами оксагетероцикленілів є 3,4-дигідро-2H-піраніл, дигідрофураніл та фтордигідрофураніл.

Прикладом поліциклічного оксагетероцикленілу є 7-оксабіцикло[2.2.1]гептеніл. Прикладами моноциклічних тіагетероцикленілів є дигідротіофеніл та дигідротіопіраніл.

Термін "гетероцикліл" означає неароматичну моноциклічну або поліциклічну систему, що містить від 3 до 10 вуглецевих атомів, у варіанті, якому віддається перевага, від 5 до 10 вуглецевих атомів, причому один або кілька атомів у згаданій циклічній системі є атомами гетероелементів, відмінних від вуглецю, наприклад, азоту, кисню або сірки. Перевага віддається циклічним системам, що містять від 1 до 3 гетероатомів. Перевага віддається циклічним системам, де кожний цикл містить 5 або 6 атомів; такі цикли позначаються також означенням "нижчий". Термін охоплює конденсований арилгетероцикліл та конденсований гетероарилгетероцикліл згідно з поданими в цьому описі визначеннями, якщо вони з'єднані з іншими фрагментами молекули через свій гетероциклільний фрагмент. Префікси "аза", "окса" або "тіа" перед назвою гетероциклілу означають, що в циклі присутній щонайменше один атом відповідно азоту, кисню або сірки. "Заміщений гетероцикліл" означає гетероцикліл згідно з поданим вище визначенням, заміщений одним або кількома (переважно від 1 до 3) "замісниками при циклічній групі", які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданим визначенням. Атом азоту в гетероциклілі може бути основним атомом азоту. Атоми азоту або сірки в гетероциклілі можуть також бути факультативно окиснені до відповідного N-оксиду, S-оксиду або S,S-діоксиду. Прикладами моноциклічних гетероциклілів є піперидил, піролідиніл, піперазиніл, морфолініл, тіоморфолініл, тіазолідиніл, 1,3-діоксоланіл, 1,4-діоксаніл,

тетрагідрофураніл, тетрагідротіофеніл, тетрагідротіопіраніл тощо.  як заміщений моноциклічний азагетероцикліл заміщений безпосередньо або через місточкову групу щонайменше одним замісником, який являє собою ароматичну групу згідно з поданим визначенням або охоплює таку групу, або заміщений такою групою; до таких груп належать, наприклад, арил, гетероарил, арилоксигрупа, гетероарилоксигрупа, ароїл або його тіоксо-аналог, гетероароїл або його тіоксо-аналог, ароїлоксигрупа, гетероароїлоксигрупа, арилоксикарбоніл, гетероарилоксикарбоніл, арилсульфоніл, гетероарилсульфоніл, арилсульфініл, гетероарилсульфініл, арилтіогрупа, гетероарилтіогрупа, ариддіазогрупа, гетероарилдіазогрупа, Y¹Y²N-, Y¹Y²NC(O)-, Y¹Y²NC(O)O-, Y¹Y²NC(O)NY³- або Y¹Y²NSO₂-, де щонайменше один з Y¹ та Y² являє собою арил або гетероарил, охоплює таку групу або заміщений такою групою. До місточкових груп, яким віддається перевага, належать -C(O)-, -OC(O)-, нижчий алкіл, нижча алкоксигрупа, нижчий алкеніл, -O-, -S-, -C(O)C(O)-, -S(O)-, -S(O)₂-, -NR⁸⁰-, де R⁸⁰ є водень, алкіл, циклоалкіл, арил, аралкіл, гетероцикліл або гетероарил. Особлива перевага серед місточкових груп віддається -C(O)- та -OC(O)-. "Заміщений поліциклічний азагетероцикліл" означає поліциклічний азагетероцикліл згідно з поданим визначенням, заміщений одним або кількома (переважно від 1 до 3) "замісниками при циклічній групі", які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданим визначенням. "Заміщений поліциклічний азагетероцикленіл" означає поліциклічний азагетероцикленіл згідно з поданим визначенням, заміщений одним або кількома (переважно від 1 до 3) "замісниками при циклічній групі", які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданим визначенням.

Термін "гетероциклілен" означає двовалентний гетероцикліл згідно з поданим вище визначенням, що містить від 4 до 8 атомів вуглецю. Перевага віддається системам, де цикл містить 5 або 6 вуглецевих атомів; такі цикли позначаються також означенням "нижчий". Місця приєднання гетероциклілену можуть бути взаємно розташовані за схемами 1,1-, 1,2-, 1,3-або 1,4-, а стереохімічне взаємне розташування місць приєднання може відповідати або цис-, або транс-схемі. Прикладами гетероцикліленів є (1,1-, 1,2- або 1,3-)-піперидиніл та (1,1- або 1,2-)-тетрагідрофуранілен. "Заміщений гетероциклілен" означає гетероциклілен згідно з поданим вище визначенням, заміщений одним або кількома (переважно від 1 до 3) "замісниками при циклічній групі", які можуть бути однаковими або різними і відповідають поданим визначенням.

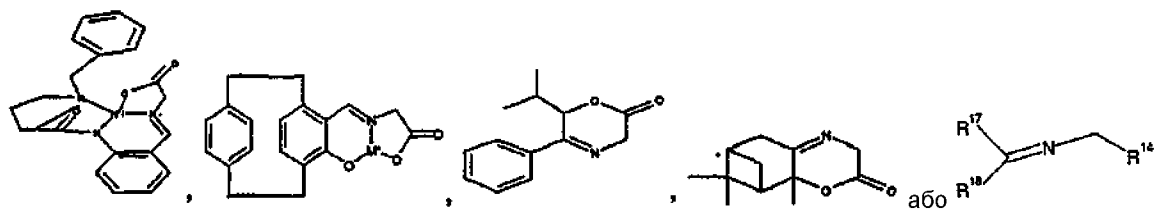
Термін "гідрат" означає сольват, де молекулою (молекулами) розчинника є H₂O.

Термін "лабільна при гідруванні група захисту аміну" означає групу захисту аміну згідно з поданим вище визначенням, яка легко відщеплюється при гідруванні, але залишається відносно стійкою до інших реагентів. Лабільною при гідруванні групою захисту аміну, якій віддається перевага, є бензилкарбамат (Cbz).

Термін "лабільна при гідруванні група захисту кислоти" означає групу захисту кислоти згідно з поданим вище визначенням, яка легко відщеплюється при гідруванні, але залишається відносно стійкою до інших реагентів. Лабільною при гідруванні групою захисту кислоти, якій віддається перевага, є бензил.

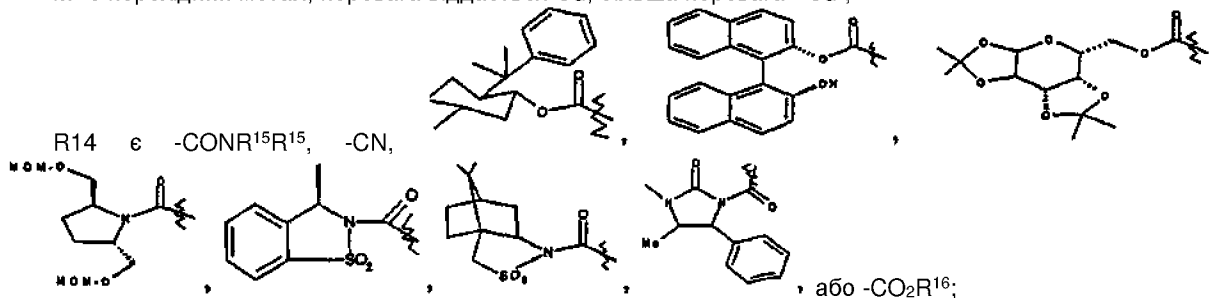
Термін "гігроскопічність" означає сорбцію, при якій мається на увазі поглинання певної кількості або певного стану води, достатньої для впливу на фізичні або хімічні властивості речовини ["Енциклопедія фармацевтичної технології" під ред. Суорбріка та Бойлана - Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, Eds. J. Swarbrick and J.C. Boylan, 10, 33].

Термін "імінна похідна гліциніміду" означає імінну Шиффову основу гліцину, яка корисна при синтезі α-амінокислот, як природних, так і неприродних. Функціональна група імінного складного ефіру може мати у своєму складі один або кілька асиметричних центрів, які можуть сприяти стереоіндукції при утворенні зв'язку. Крім того, такі імінні похідні гліциніміду можуть бути прищеплені до полімерних носіїв для спрощення комбінаторних синтезів. Імінні похідні гліциніміду можна одержати шляхом конденсації складного ефіру гліцину з відповідним кетоном у присутності кислотного каталізатора. Реакція полегшується при видаленні води. Застосування імінних похідних гліциніміду при синтезах сполук шляхом сполучення за Міхаєлем широко відоме; воно описане, [наприклад, в роботі Гільєна та ін. (G. Gufflena et al., J. Org. Chem. 2000, 65, 7310-7322)], зміст якої включено до цього опису за посиланням. До конкретних прикладів імінних похідних гліциніміду згідно з цим винаходом належать сполуки, вибрані із групи формул

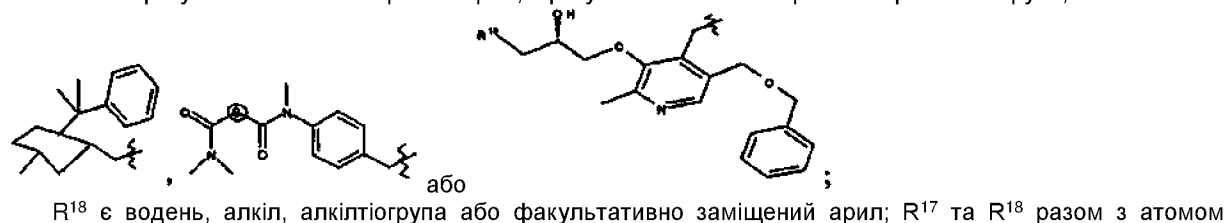


де:

M* є перехідний метал, перевага віддається Cu, більша перевага - Cu^{II},



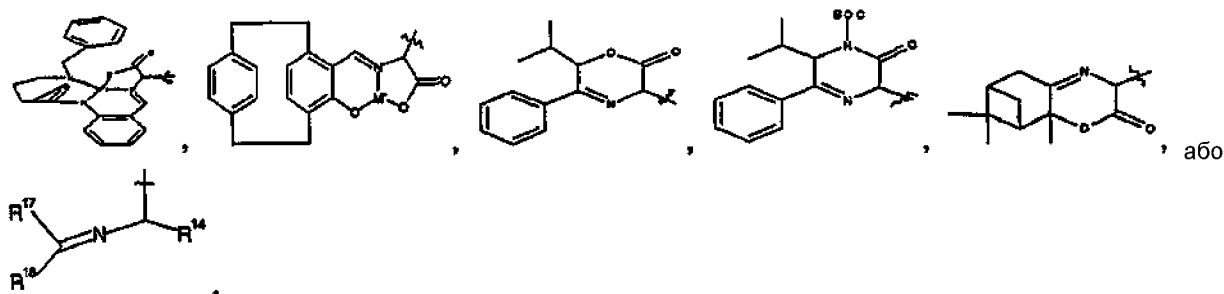
R¹⁷ є факультативно заміщений арил, факультативно заміщена аліфатична група,



вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють групи

Ⓢ є тверда фаза.

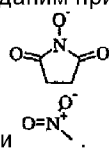
Термін "адукт імінної похідної гліциніміду" означає сполуку, що утворюється в результаті відщеплення атома водню в α-положенні до азоту та карбонілу Шиффової основи і використання цього відщеплення для утворення зв'язку. Конкретними прикладами адуктів імінної похідної гліциніміду згідно з цим винаходом є сполуки, вибрані із групи формул



де:

R¹⁴, R¹⁷ та R¹⁸ відповідають визначенням, поданим при поясненні терміну "імінна похідна гліциніміду".

Термін "N-оксисукцинімід" означає структуру



Термін "N-оксид" означає фрагмент структури



Термін "пацієнт" означає людину та інших ссавців.

Термін "пептидоміметичний" означає полімер, що містить залишки амінокислот, з'єднані між собою амідними зв'язками.

Термін "фармацевтично прийнятний складний ефір" стосується складних ефірів, які гідролізуються in vivo, і охоплює такі складні ефіри, які легко розкладаються в організмі людини з утворенням вихідної

сполуки або її солі. До придатних груп складних ефірів належать, наприклад, складні ефіри, що є похідними фармацевтично прийнятних аліфатичних карбонових кислот, зокрема, алканкарбонових, алкенкарбонових, циклоалканкарбонових та алкандикарбонових кислот, в яких кожний алкільний або алкенільний фрагмент містить переважно не більше 6 вуглецевих атомів. До прикладів таких складних ефірів належать форміати, ацетати, пропіонати, бутирати, акрилати, етилсукцинати тощо.

Термін "фармацевтично прийнятні проліки" у значенні, вживаному в цьому описі, означає проліки сполук, наданих цим винаходом, які, в межах здорового медичного глузду, придатні для застосування в контакт з тканинами організмів людини та нижчих тварин при небажаній токсичності, запаленні, алергічних реакціях тощо, сумірних із розумним співвідношенням перевага/ризик, і ефективних із точки зору їх застосування за призначенням, а також, в разі можливості, цвітеріонні форми сполук, наданих цим винаходом. Термін "проліки" стосується сполук, які швидко перетворюються *in vivo* з утворенням в організмі пацієнта вихідної сполуки вищенаведеної формули, наприклад, внаслідок гідролізу в крові. Клас груп, що вступають в реакцію з карбоксильними групами сполук згідно з винаходом, утворюють функціональні групи, які швидко перетворюються *in vivo* внаслідок метаболічного розщеплення. До таких груп належать, наприклад, алканолі (наприклад, ацетил, пропанолі, бутанолі тощо), не заміщений та заміщений ароіл (наприклад, бензолі і заміщений бензолі), алкоксикарбоніл (наприклад, етоксикарбоніл), триалкілсиліл (наприклад, триметил- і триетилсиліл), складні моноефіри дикарбонових кислот (наприклад, сукциніл) тощо, але не тільки згадані групи. Внаслідок легкості відщеплення здатних до метаболічного розкладу *in vivo* груп від сполук, наданих цим винаходом, сполуки, які мають у складі згадані групи, діють як проліки. Перевага сполук, що несуть метаболічно відщеплювані групи, полягає в тому, що вони можуть мати підвищену біодоступність внаслідок підвищеної розчинності та/або швидкості засвоєння в порівнянні до вихідних сполук, за рахунок наявності метаболічно відщеплюваної групи. Це питання докладно розглянуто в [публікаціях: "Створення проліків" під ред. Бундгаарда (Design of Prodrugs, H. Bundgaard, Ed., Elsevier, 1985); "Методи ензимології" під ред. Віддера та інших (Methods in Enzymology, K. Widder et al., Ed., Academic Press, 42, 309-396, 1985); "Посібник із створення та розроблення лікарських засобів" під ред. Крорсгаард-Ларсена та Бендеджа (A Textbook of Drug Design and Development, Krogsgaard-Larsen and H. Bandaged, Ed., Chapter 5: "Design and Application of Prodrugs", 113-191, 1991); Бундгард, "Огляди з прогресивних систем доставки лікарських засобів" (Advanced Drug Delivery Reviews, H. Bundgard, 8, 1-38, 1992); J. Pharm. Sci., 77, 285 (1988); Накея та інші (N. Nakeya et al., Chem. Pharm. Bull. 32, 692, 1984); Хіручі та Стелла, "Проліки як нові системи доставки" (T. Higuchi and V. Stella, Pro-drugs as Novel Delivery Systems, 14 A.C.S. Symposium Series) та "Біозворотні носії в створенні лікарських засобів" під ред. Роша (Bioreversible Carriers in Drug Design, E.B. Rocher, ed., American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987)], відомості з яких включено до цього опису за посиланням.

Термін "фармацевтично прийнятні солі" стосується відносно не токсичних солей сполук, наданих цим винаходом, утворених із неорганічними та органічними кислотами та основами. Ці солі можна одержати *in situ* на стадії кінцевого виділення та очищення згаданих сполук. Зокрема, солі кислот можна одержати шляхом проведення окремої реакції очищеної сполуки у формі вільної основи з відповідною неорганічною або органічною кислотою і виділення утвореної солі. Прикладами солей кислот є гідробромід, гідрохлорид, сульфат, бісульфат, фосфат, нітрат, ацетат, оксалат, валерат, олеат, пальмітат, стеарат, лаурат, борат, бензоат, лактат, тозилат, цитрат, малеїнат, фумарат, сукцинат, тартрат, нафтилат, мезилат, глюкогептонат, лактіобіонат, сульфамати, малонати, саліцилати, пропіонати, метилен-біс- β -гідроксинафтоати, гентизати, ізетіонати, ди-*n*-толуолтартрати, метансульфонати, етансульфонати, бензолсульфонати, *p*-толуолсульфонати, циклогексилсульфамати та хінатлаурилсульфонати тощо. [Дивись, наприклад, роботу Берж та інші, "Фармацевтичні солі" (S.M. Berge et al., J. Pharm. Sci., 66, 1-19, 1977)], яку включено до цього опису за посиланням. Солі основ також можна одержати шляхом проведення окремої реакції очищеної сполуки у кислотній формі з відповідною неорганічною або органічною основою і виділення утвореної солі. До солей основ належать фармацевтично прийнятні солі металів та амінів. До придатних солей металів належать солі натрію, калію, кальцію, барію, цинку, магнію та алюмінію. Перевага віддається солям натрію та калію. Придатні солі неорганічних основ одержують з основних сполук металів, до яких належать гідрид натрію, гідроксид натрію, гідроксид калію, гідроксид кальцію, гідроксид алюмінію, гідроксид літію, гідроксид магнію, гідроксид цинку тощо. Придатні солі з амінами одержують з амінів, які мають достатню основність для утворення стабільних солей, при цьому перевага віддається амінам, які часто застосовуються в медичній хімії, внаслідок їх низької токсичності та прийнятності для медичного застосування. Прикладами таких амінів є: аміак, етилендіамін, *N*-метилглюкамін, лізин, аргінін, орнітин, холін, *N,N'*-дибензилетилендіамін, хлорпрокаїн, діетаноламін, прокаїн, *N*-бензилфенетиламін, діетиламін, піперазин, трис(гідроксиметил)-амінометан, гідроксид тетраметиламону, триетиламін, дибензиламін, ефенамін, дегідроабіетиламін, *N*-етилпіперидин, бензиламін, тетраметиламоній, тетраетиламоній, метиламін, диметиламін, триметиламін, етиламін, основні амінокислоти, наприклад, лізин та аргінін, дициклогексиламін тощо.

Термін "замісники при циклічній групі" означає замісники, приєднані до ароматичних або не ароматичних циклічних систем. До таких замісників належать, в тому числі, арил, гетероарил, гідроксил, алкоксигрупа, циклілоксигрупа, арилоксигрупа, гетероарилоксигрупа, ацил або його тіоксо-аналог, циклілкарбоніл або його тіоксо-аналог, ароіл або його тіоксо-аналог, гетероароіл або його тіоксо-аналог, ацилоксигрупа, циклілкарбонілоксигрупа, ароілоксигрупа, гетероароілоксигрупа, галогід, нітрогрупа, ціан, карбоксил (кислота), $-C(O)-NHON$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, сульфогрупа, фосфонієва група, алкілсульфонілкарбамоїл, тетразоліл, арилсульфонілкарбамоїл, *N*-метокси-карбамоїл, гетероарил-сульфонілкарбамоїл, 3-гідрокси-3-циклобутен-1,2-діон, 3,5-діоксо-1,2,4-оксадіазолідиніл або гідроксигетероарил, наприклад, 3-гідрокси-3-циклоізоксазоліл, 3-гідрокси-1-метилпіразоліл, алкілоксикарбоніл, циклілоксикарбоніл, арилоксикарбоніл, гетероарилоксикарбоніл, алкілсульфоніл, циклілсульфоніл, арилсульфоніл, гетероарилсульфоніл, алкілсульфініл, циклілсульфініл, арилсульфініл, гетероарилсульфініл, алкілтіогрупа, циклілтіогрупа, арилтіогрупа, гетероарилтіогрупа, цикліл, арилдіазогрупа, гетероарилдіазогрупа, тіол, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ або $Y^1Y^2NSO_2-$, де кожен з Y^1 , Y^2 та Y^3 незалежно від інших є водень, алкіл, арил або гетероарил, або, в разі,

якщо замісником є група Y^1Y^2N- , то один з Y^1 та Y^2 може бути ацил, циклілкарбоніл, ароїл, гетероароїл, алкоксикарбоніл, циклілоксикарбоніл, арилоксикарбоніл або гетероарилоксикарбоніл згідно з поданим у цьому описі визначенням, а інший з Y^1 та Y^2 відповідає поданому вище визначенню; або, в разі, якщо замісником є $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ або $Y^1Y^2NSO_2-$, то Y^1 та Y^2 спільно з атомом азоту, до якого вони приєднані, можуть утворювати азагетероцикліл або азагетероцикленіл із кількістю членів від 4 до 7. Якщо циклічна система є насиченою або частково насиченою, то "замісники при циклічній групі" включають, крім того, метилен ($H_2C=$), оксогрупу ($O=$) та тіоксогрупу ($S=$). Кислотними або амідними замісниками при циклічній групі є карбоксил (кислота), $-C(O)-NHON$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, сульфогрупа, фосфонієва група, алкілсульфонілкарбамоїл, тетразоліл, арилсульфонілкарбамоїл, N-метокси-карбамоїл, гетероарил-сульфонілкарбамоїл, 3-гідрокси-3-циклобутен-1,2-діон, 3,5-діоксо-1,2,4-оксадіазолідиніл або гідроксигетероарил, наприклад, 3-гідроксіізоксазоліл, 3-гідрокси-1-метилпіразоліл, та група $Y^1Y^2NC(O)-$. Некислотними полярними замісниками при циклічній групі є гідроксил, оксогрупа ($O=$), тіоксогрупа ($S=$), ацил або його тіоксо-аналог, циклілкарбоніл або його тіоксо-аналог, ароїл або його тіоксо-аналог, гетероароїл або його тіоксо-аналог, алкоксикарбоніл, циклілоксикарбоніл, арилоксикарбоніл, гетероарилоксикарбоніл, ацилоксигрупа, циклілкарбонілоксигрупа, ароїлоксигрупа, гетероароїл-оксигрупа, алкілсульфоніл, циклілсульфоніл, арилсульфоніл, гетероарилсульфоніл, алкілсульфініл, циклілсульфініл, арилсульфініл, гетероарилсульфініл, тіол, Y^1Y^2N- , Y^1Y^2NCXO- , $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ або $Y^1Y^2NSO_2-$.

Термін "сольват" означає фізичний асоціат молекули сполуки, наданої цим винаходом, з однією або кількома молекулами розчинника. Такий фізичний асоціат включає утворення водневого зв'язку. В деяких випадках сольват піддається виділенню, наприклад, якщо одна або кілька молекул розчинника включені в кристалічну ґратку кристалічної твердої речовини. Термін охоплює як сольвати, що існують у розчині, так і сольвати, які можна виділити. Прикладами сольватів є гідрати, етанолати, метанолати тощо.

Нижче подані конкретні приклади здійснення описаного винаходу та варіанти його здійснення, яким віддається перевага.

Конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^0 є зв'язок.

Іншим конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^0 є дифторметилен.

Конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^1 є водень або факультативно заміщена нижча аліфатична група.

Іншим конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^1 є водень або нижчий алкіл.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^1 є водень.

Конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^2 є факультативно заміщена нижча аліфатична група або факультативно заміщена моноциклічна група.

Іншим конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^2 є факультативно заміщений нижчий алкіл, факультативно заміщений нижчий алкеніл або факультативно заміщений моноциклічний циклоалкіл.

Ще одним конкретним варіантом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^2 є карбоксиметил, 1-карбокси-2-фенілетил, циклопропіл, циклобутан, 1-циклогексилетил, 1-фенілетил, бут-2-іл, 1-пірид-4-ілетил, пропен-3-іл або 3-метилбут-2-іл; більша перевага віддається циклопропілу.

Конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^3 є факультативно заміщений (нижча аліфатична група)-метилен.

Іншим конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^3 є факультативно заміщений галоїдом (нижчий алкіл або алкеніл)-метилен.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^3 є пропілметилен, 2,2-дифторетилметилен, 2,2,2-трифторетилметилен або пропен-3-ілметилен; у варіанті, якому віддається більша перевага, R^3 є пропілметилен або 2,2-дифторетилметилен; ще більша перевага віддається сполуці, де R^3 є пропілметилен.

Конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^4 є водень або факультативно заміщена нижча аліфатична група.

Іншим конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^4 є водень або нижчий алкіл.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^4 є водень.

Конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^5 є факультативно заміщений (нижча аліфатична група)-метилен.

Іншим конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^5 є факультативно заміщений фенілом, карбоксигрупою, карбоксамідогрупою або алкоксикарбонілом (нижчий алкіл або алкеніл)-метилен.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^5 є метилметилен, ізопропілметилен, трет-бутилметилен, бут-2-метилен, бутилметилен, бензилметилен, 3-метилбутилметилен, 2-метилпропіл-метилен, карбоксиметилметилен, карбоксамідометилметилен, бензилоксикарбонілметил-метилен, бензилоксикарбонілпропіл-метилен, або фенілпропен-3-ілметилен; у варіанті, якому віддається більша перевага, R^5 є ізопропілметилен або трет-бутилметилен.

Конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^6 є водень або факультативно заміщена нижча аліфатична група.

Іншим конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^6 є водень або нижчий алкіл.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^6 є водень.

Конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^7 є факультативно заміщений (нижча аліфатична група)-метилен, факультативно заміщений (нижча циклічна група)-метилен або факультативно заміщений (моноциклічний арил або гетероарил)-метилен.

Іншим конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^7 є факультативно заміщений (нижчий алкіл)-метилен, факультативно заміщений (нижчий циклоалкіл)-метилен або

факультативно заміщений фенілметилен.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^7 є метилметилен, ізопропілметилен, н-пропілметилен, фенілметилен, циклогексилметилен, цикlopентилметилен, трет-бутилметилен, втор-бутилметилен, циклогексилметилметилен або фенілметилметилен; більша перевага віддається ізопропілметилену, циклогексилметилену, цикlopентилметилену, трет-бутилметилену або вто/ьбутилметилену.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є також сполука, де кожний із R^3 , R^5 та R^7 є монозаміщений метилен.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є також сполука, де R^3 є монозаміщений метилен і має (S)-конфігурацію при атомі вуглецю, приєднаному до фрагмента $-C(O)-R^0-C(O)-NR^1R^2$.

Конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^8 є водень або факультативно заміщена нижча аліфатична група.

Іншим конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^8 є водень або нижчий алкіл.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^8 є водень.

Конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^9 є факультативно заміщена нижча аліфатична група або факультативно заміщена моноциклічна ароматична група.

Іншим конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^9 є факультативно заміщений нижчий алкіл або факультативно заміщений моноциклічний гетероарил.

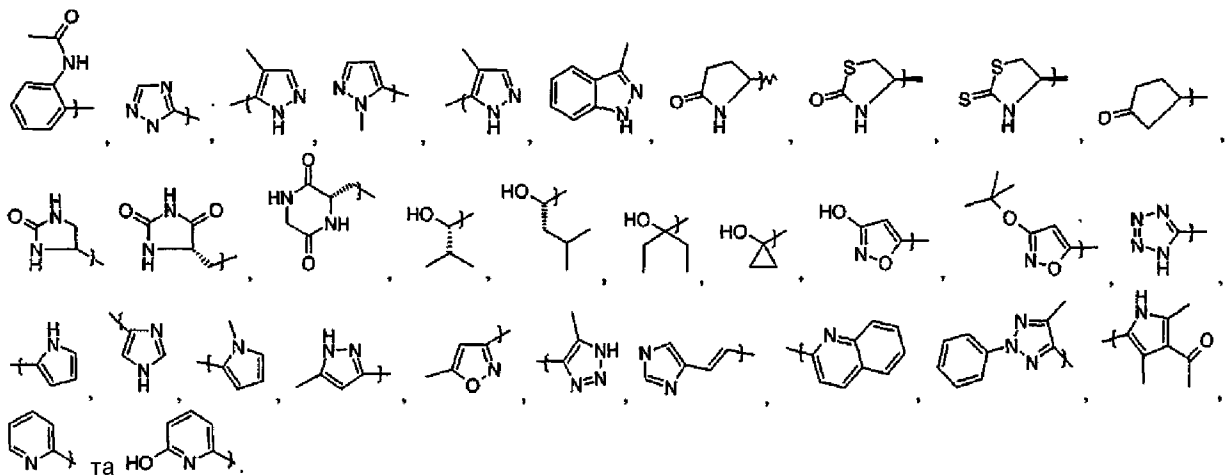
Іншим конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^9 є нижчий алкіл, факультативно заміщений карбоксилем, групою (нижчий алкіл)- SO_2NH- , групою (нижчий алкіл)- $NHCO-$, гідроксильом, фенілом, гетероарилем або групою (нижчий алкіл)- $OC(O)NH-$, або факультативно заміщений моноциклічний гетероарил.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^9 є нижчий алкіл, заміщений групою (моно- або ди)MeOC(O)NH-; більша перевага віддається 1,2-ди(MeOC(O)NH)етилю або 1-(MeOC(O)NH)етилю.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^9 є нижчий алкіл, заміщений карбоксилем, групою (нижчий алкіл)NHCO-або тетразолілом; більша перевага віддається 3-карбоксипропілу, 2-тетразол-5-ілпропілу, 3-(N-метилкарбоксамідо)пропілу або 3-карбокси-2,2-диметилпропілу; ще більша перевага віддається 3-карбоксипропілу, 2-тетразол-5-ілпропілу або 3-(N-метилкарбоксамідо)пропілу.

Ще одним варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^9 є факультативно заміщений нижчий алкіл; більша перевага віддається 1-гідрокси-2-фенілетилу, метилу, ізопропілу або трет-бутилу; ще більша перевага віддається метилу, ізопропілу або трет-бутилу.

Ще одним варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^9 вибрано із групи, до якої входять



Ще одним варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^9 є піразиніл.

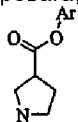
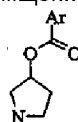
Конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^{10} є водень або факультативно заміщена нижча аліфатична група.

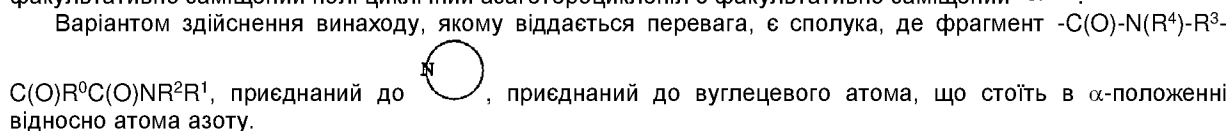
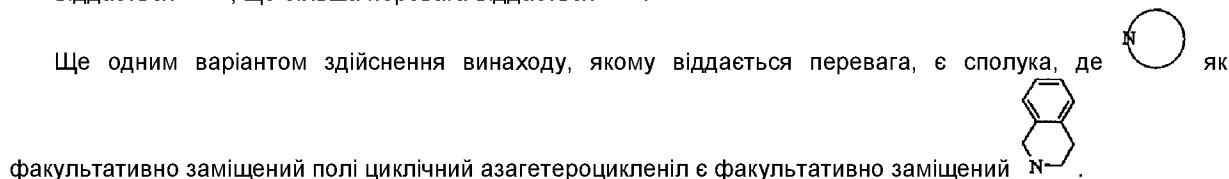
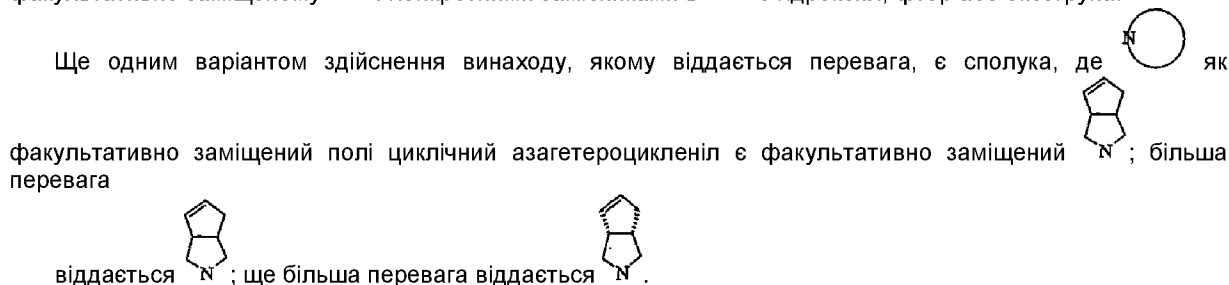
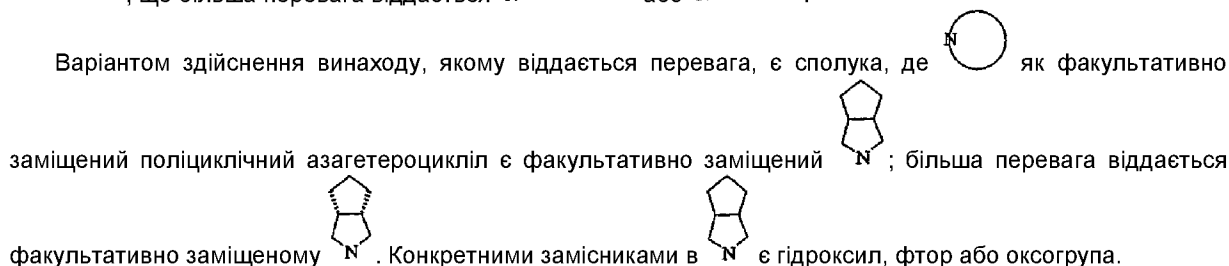
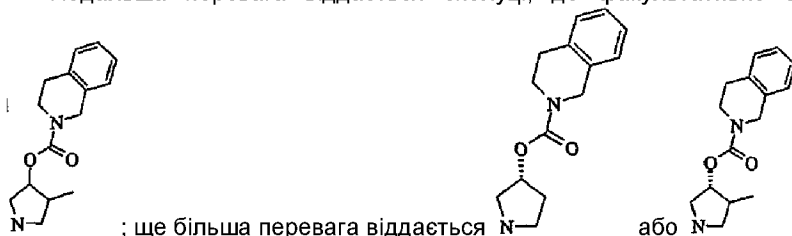
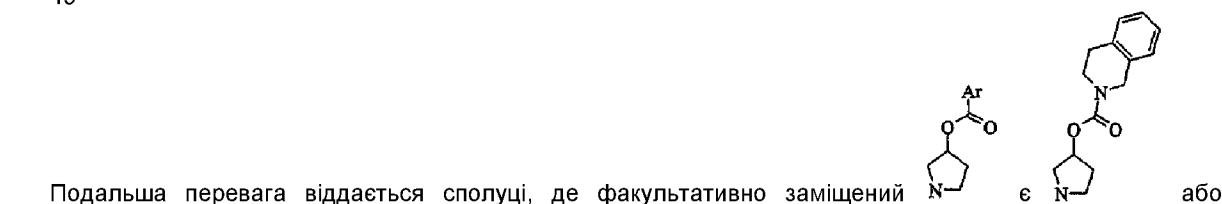
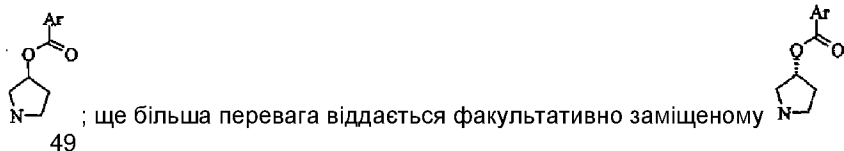
Іншим конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^{10} є водень або нижчий алкіл.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^{10} є водень.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де  як заміщений моноциклічний азатетрацикліт є заміщений піролідиніл.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де  як заміщений

моноциклічний азатетрацикліт є факультативно заміщений  або факультативно заміщений , де Ar є R^2 , що містить ароматичний фрагмент; більша перевага віддається факультативно заміщеному

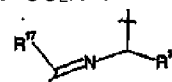


Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де L є $-C(O)-$ або $-OC(O)-$.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де $n \in 0$.

Іншим варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де $n \in 1$.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^{11} є $-CO_2R^{13}$.



Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^{12} є . Конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^{13} є факультативно заміщена нижча аліфатична група.

Іншим конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^{13} є алкіл.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^{13} є нижчий алкіл.

Іншим варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^{13} є метил.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^{14} є $-CO_2R^{16}$.

51

Конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^{15} є алкіл.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^{15} є нижчий алкіл.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^{15} є метил.

Конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^{16} є факультативно заміщена аліфатична група.

Іншим конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^{16} є алкіл.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^{16} є нижчий алкіл.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^{16} є трет-бутил.

Конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^{17} є факультативно заміщений арил.

Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^{17} є феніл.

Конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^{18} є факультативно заміщений арил.

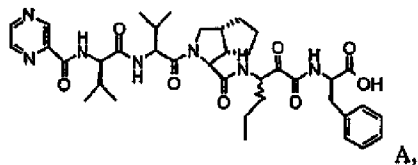
Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^{18} є феніл.

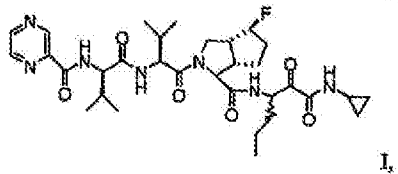
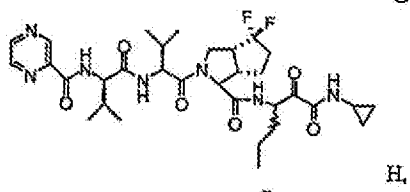
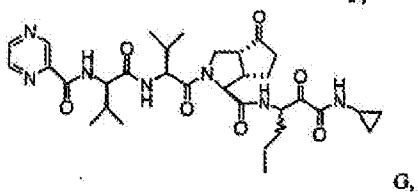
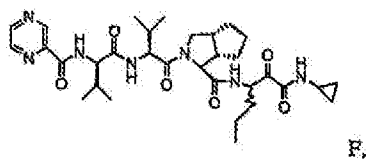
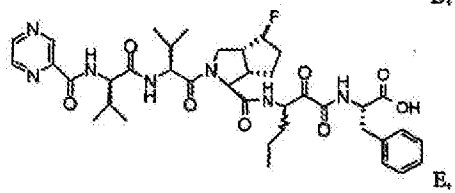
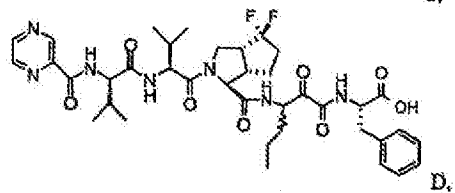
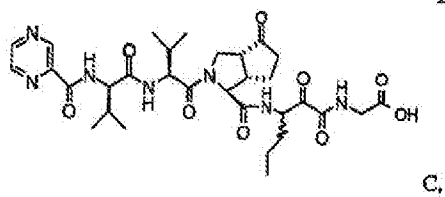
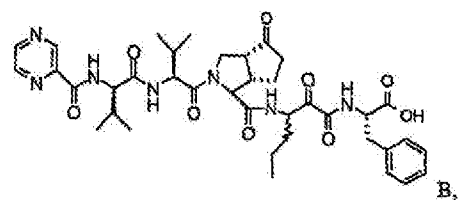
Конкретним прикладом сполуки, наданої цим винаходом, є сполука, де R^0 вибрано із групи, до якої входять BOC, Cbz і $-\text{CO}_2$ -алкіл.

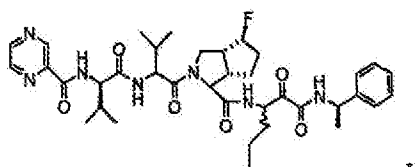
Варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, де R^0 є BOC.

Слід мати на увазі, що цей винахід охоплює усі відповідні комбінації конкретних груп та фрагментів, яким віддається перевага, згаданих в описі.

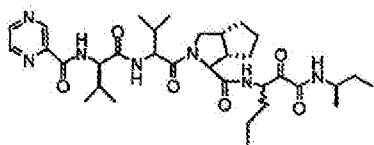
Конкретні сполуки, наданої цим винаходом, вибрано із групи сполук, позначених послідовно A-FH, до якої входять:



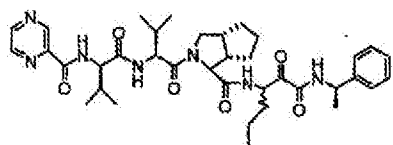




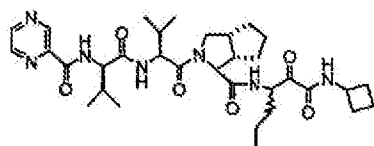
J,



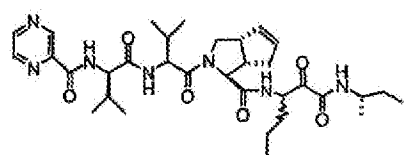
K,



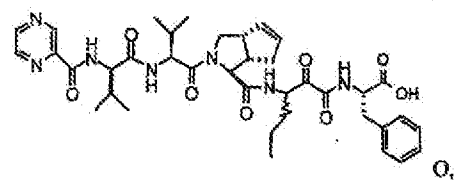
L,



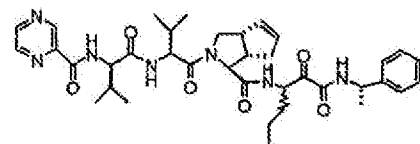
M,



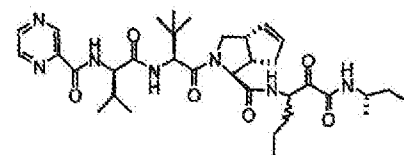
N,



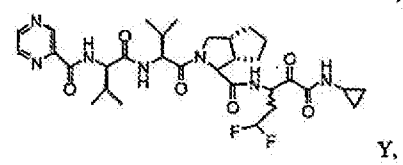
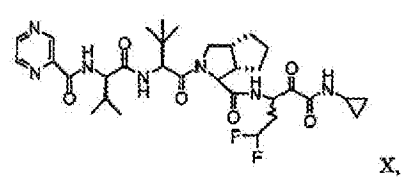
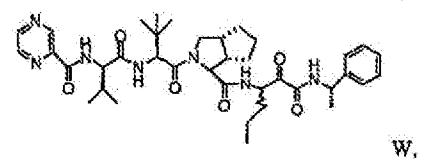
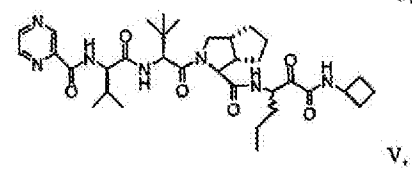
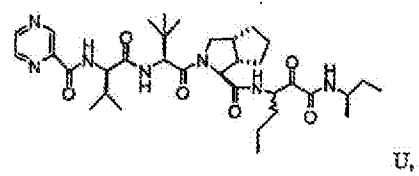
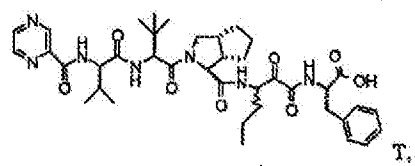
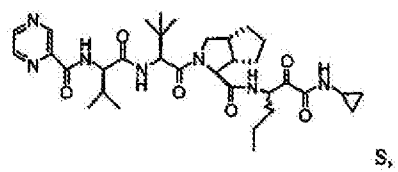
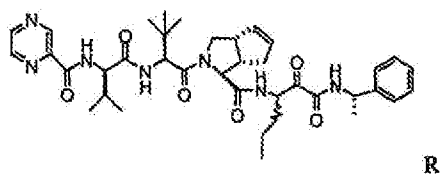
O,

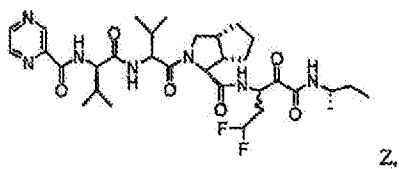


P,

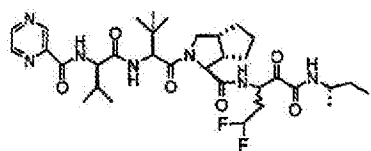


Q,

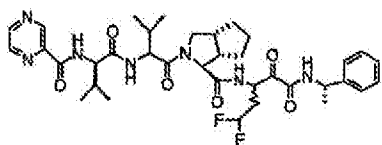




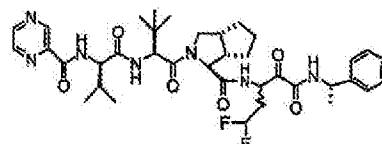
Z,



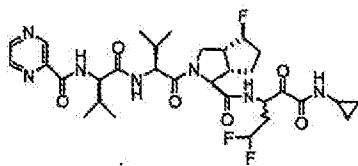
AA,



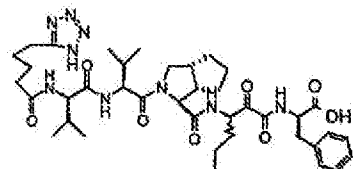
AB,



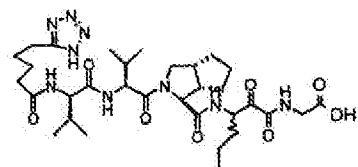
AC,



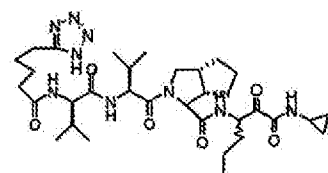
AD,



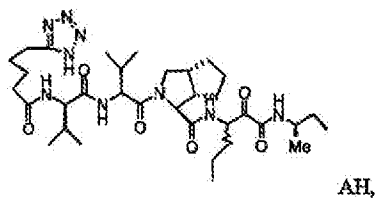
AE,



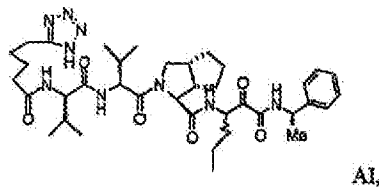
AF,



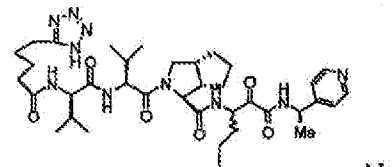
AG,



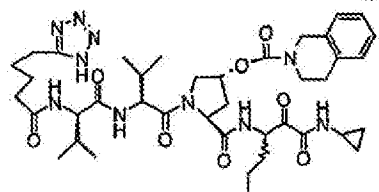
AH,



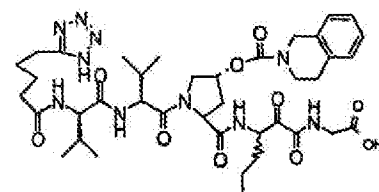
AI,



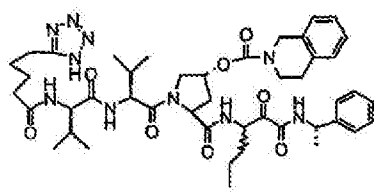
AJ,



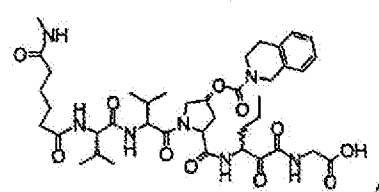
AK,



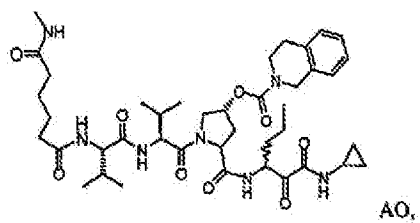
AL,



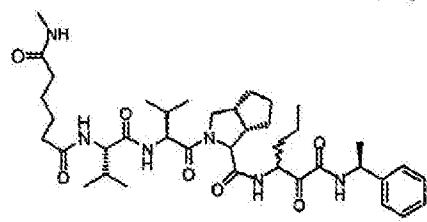
AM,



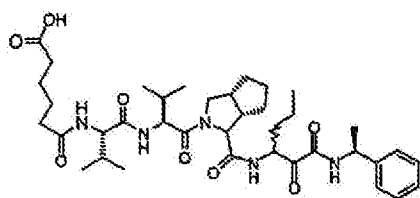
AN,



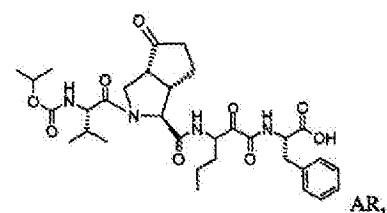
AO,



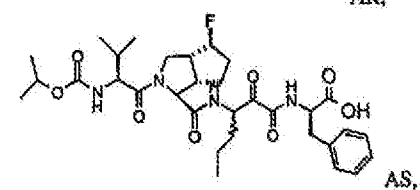
AP,



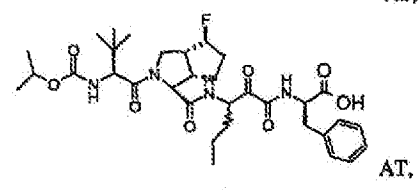
AQ,



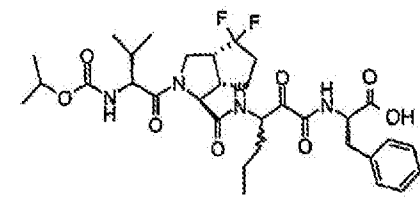
AR,



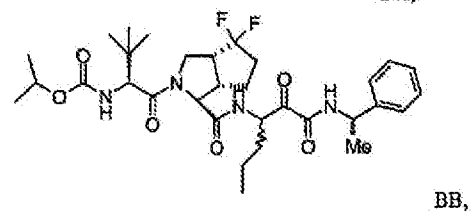
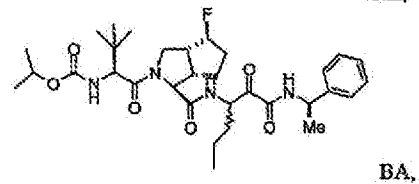
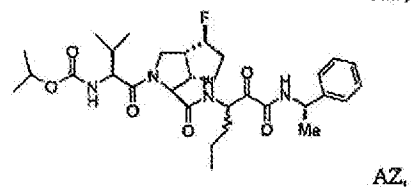
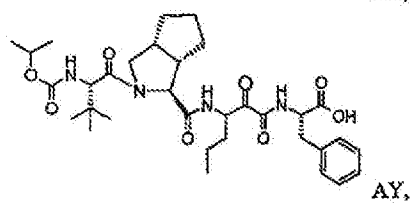
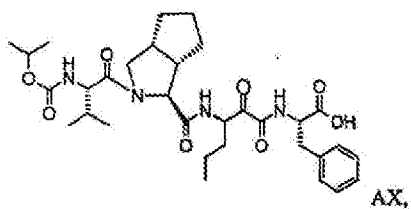
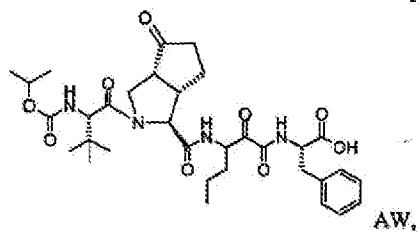
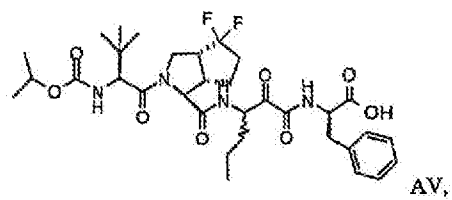
AS,

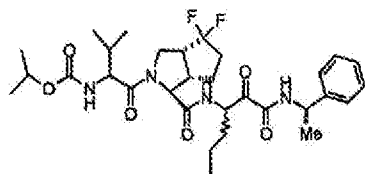


AT,

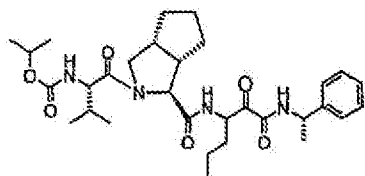


AU,

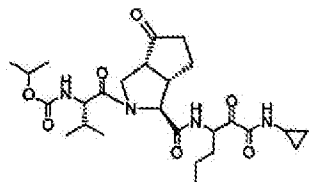




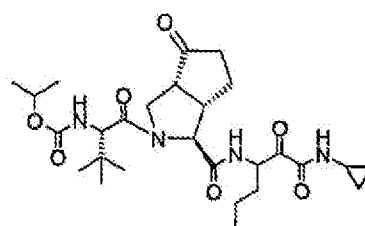
BC,



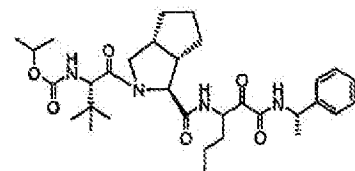
BD,



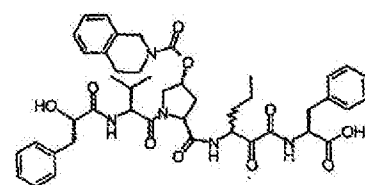
BE,



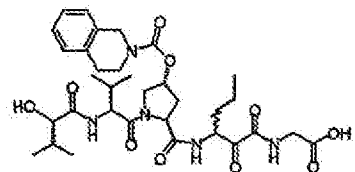
BF,



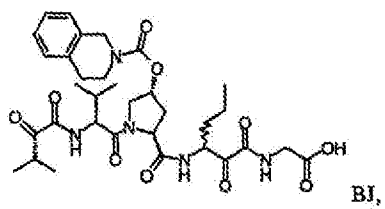
BG,



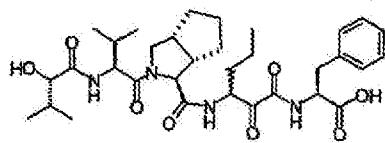
BH,



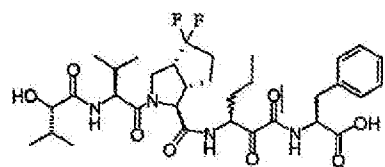
BI,



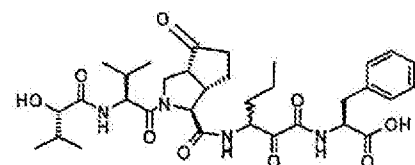
BI,



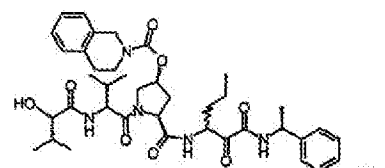
BK,



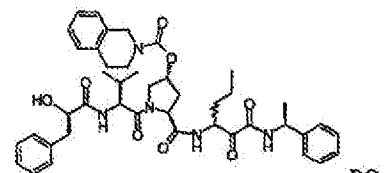
BL,



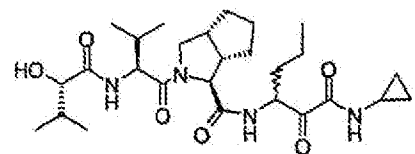
BM,



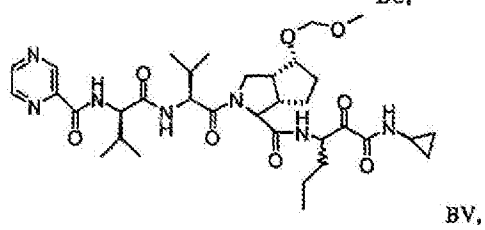
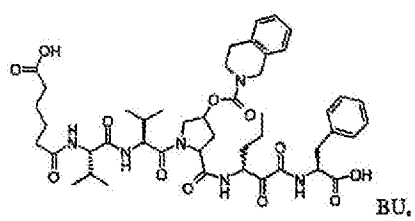
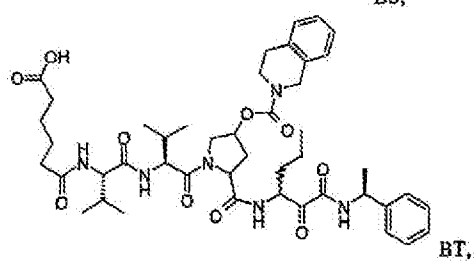
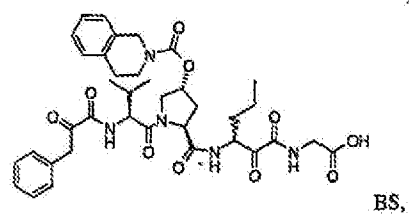
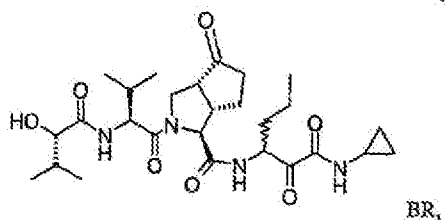
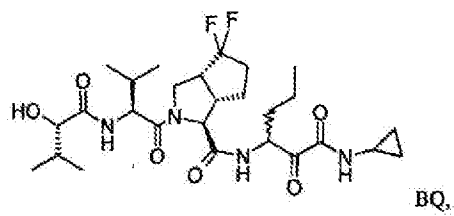
BN,

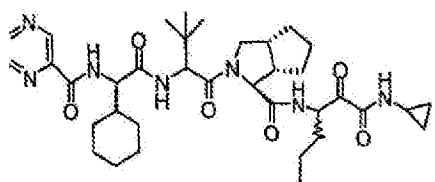


BO,

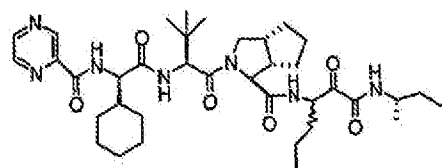


BP,

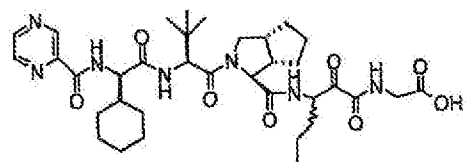




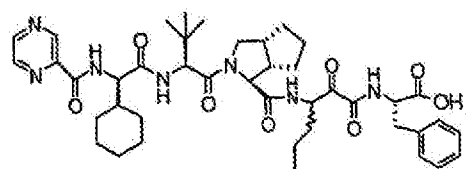
BW,



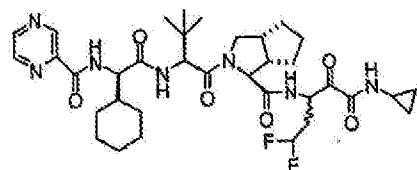
BX,



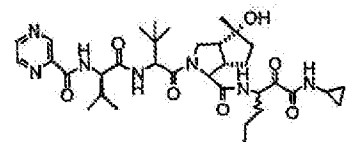
BY,



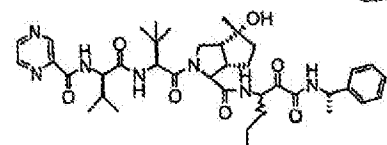
BZ,



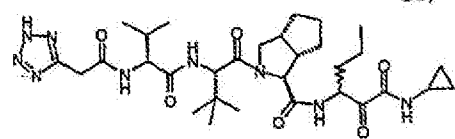
CA,



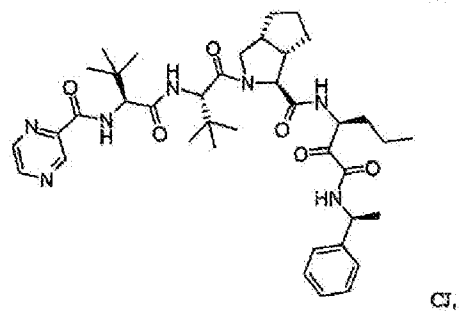
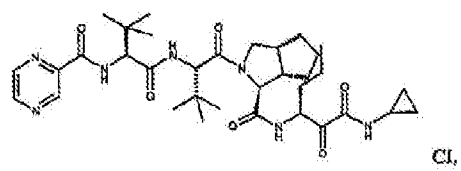
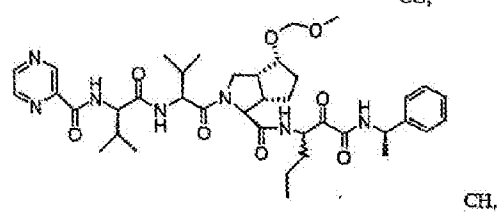
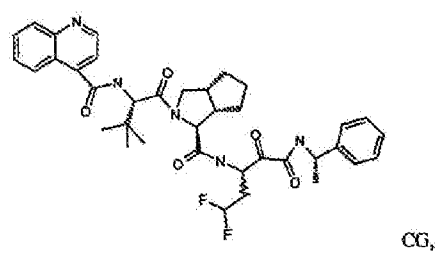
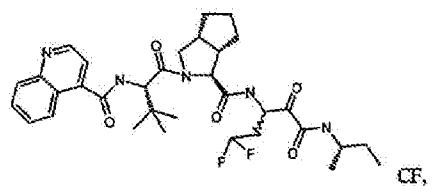
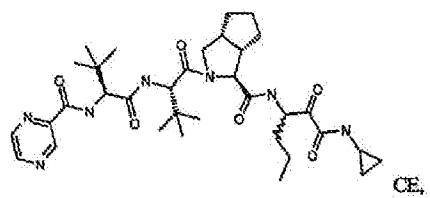
CB,

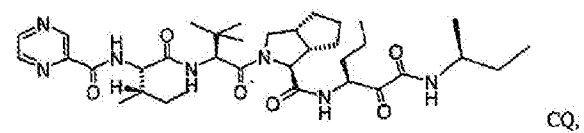
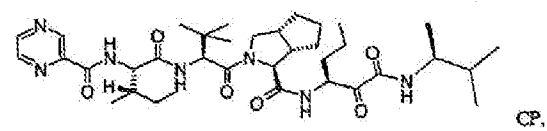
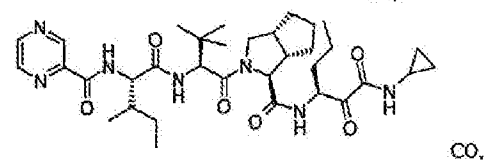
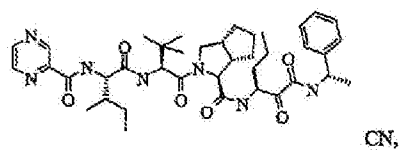
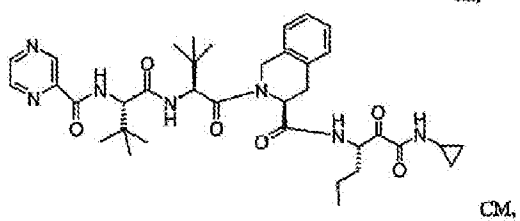
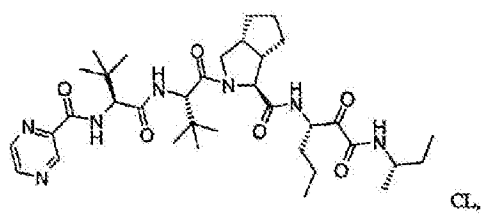
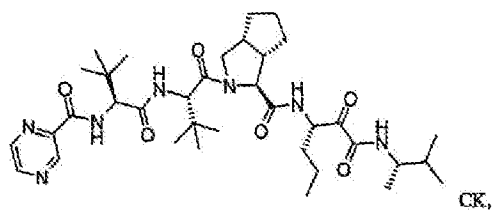


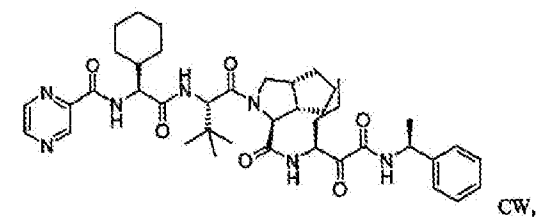
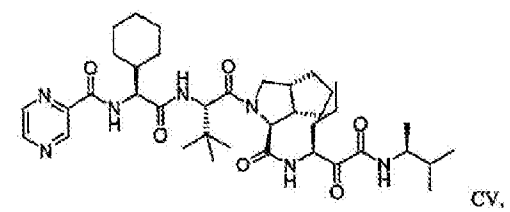
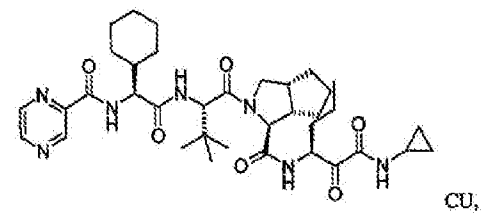
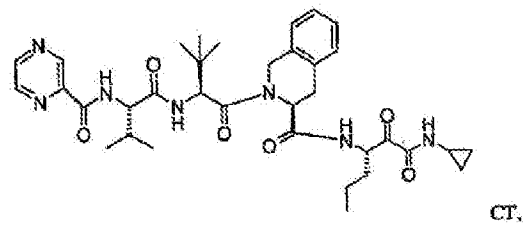
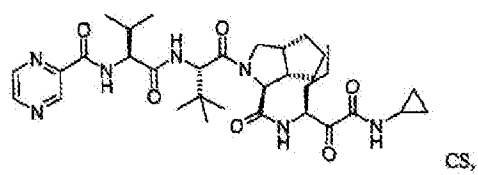
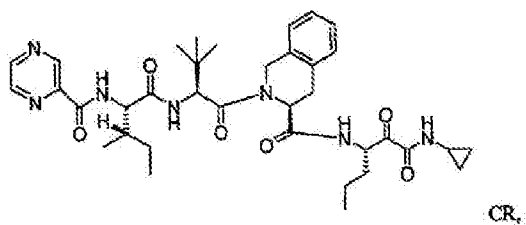
CC,

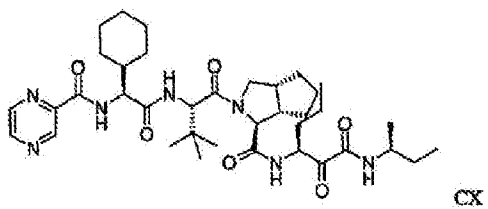


CD,

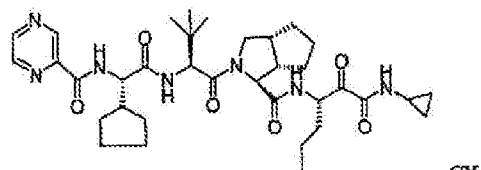




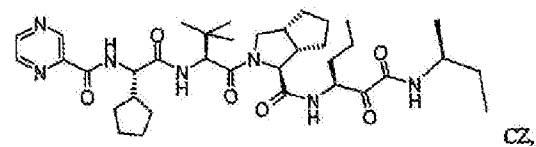




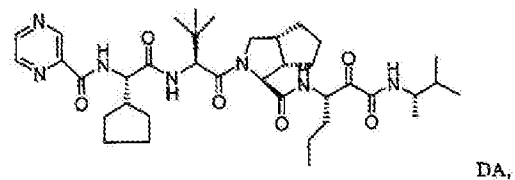
CX



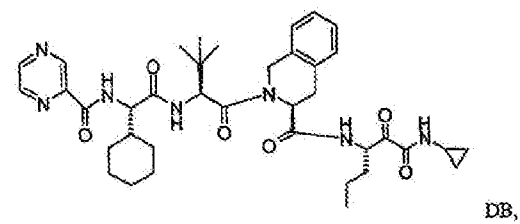
CY



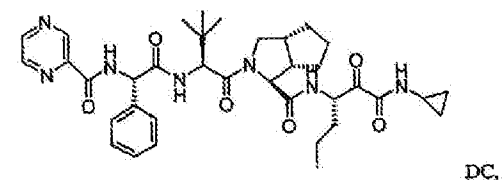
CZ



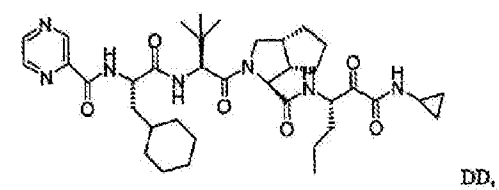
DA,



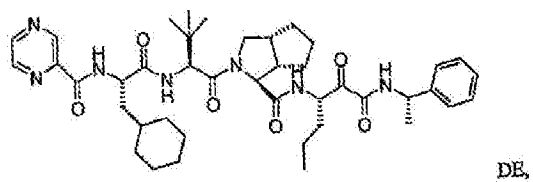
DB,



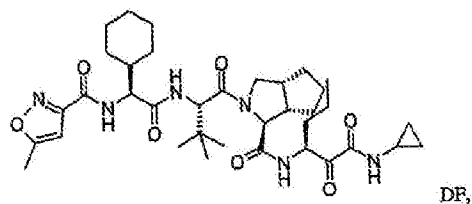
DC,



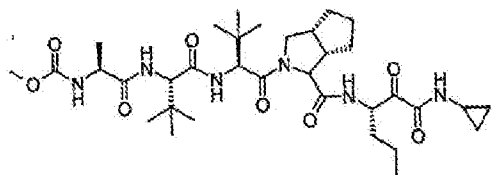
DD,



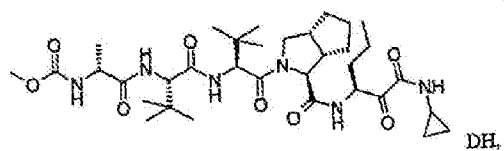
DE,



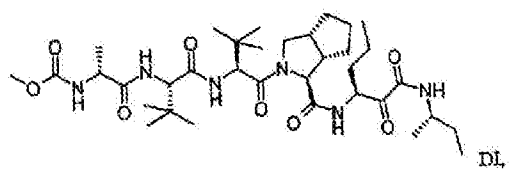
DF,



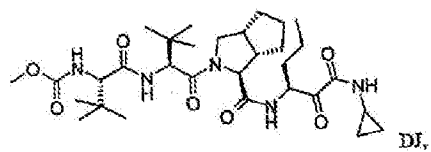
DG,



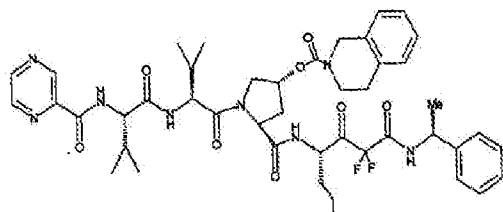
DH,



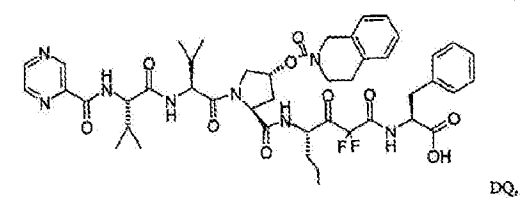
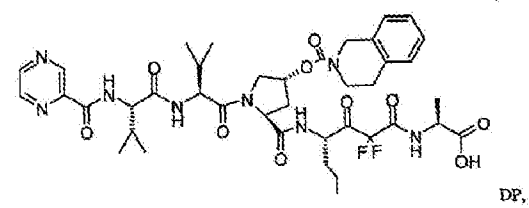
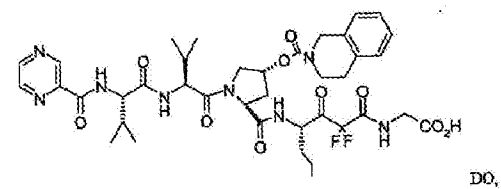
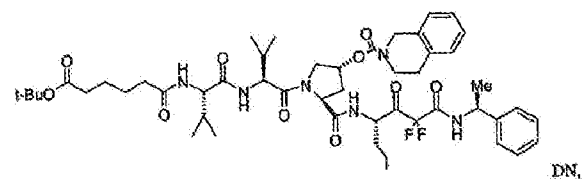
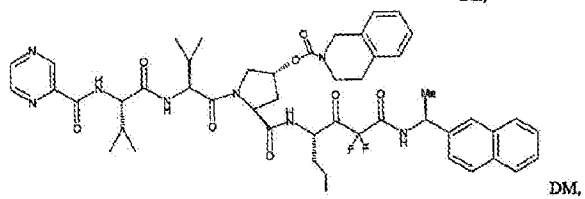
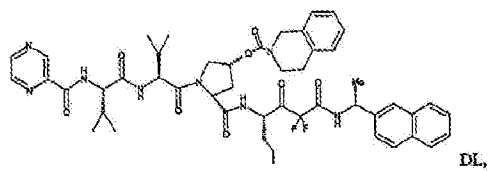
DI,

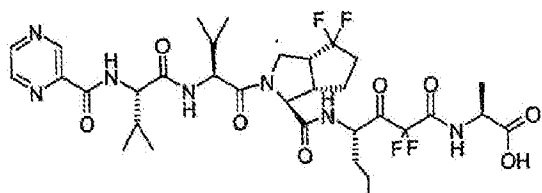


DJ,

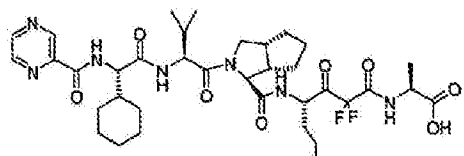


DK,

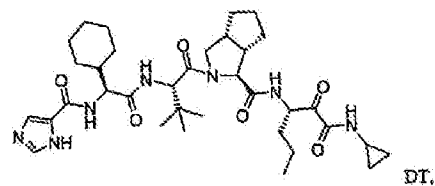




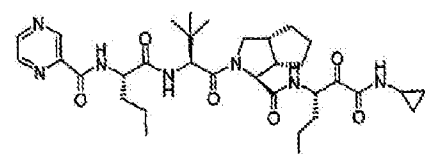
DR,



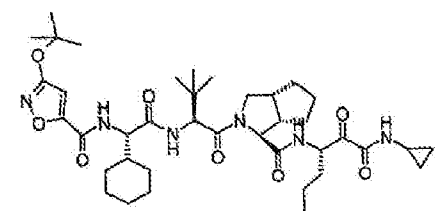
DS,



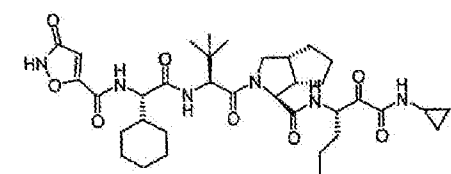
DT,



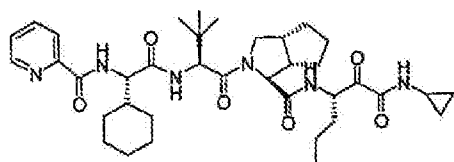
DU,



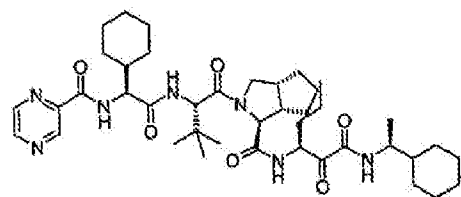
DV,



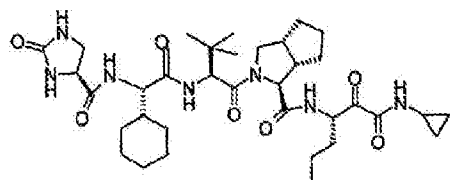
DW,



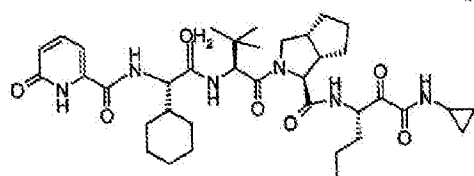
DX,



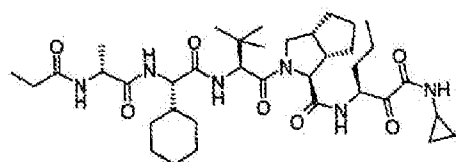
DY,



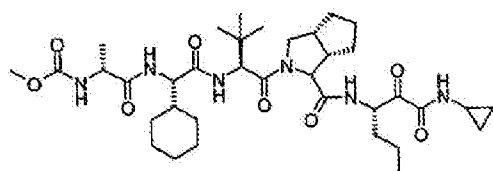
DZ,



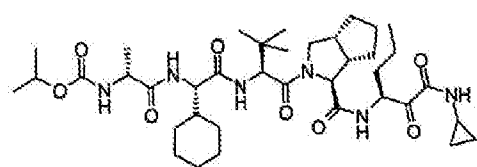
EA,



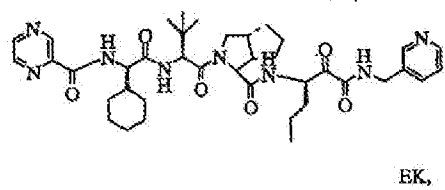
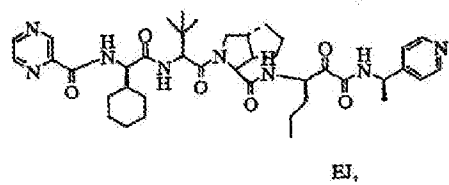
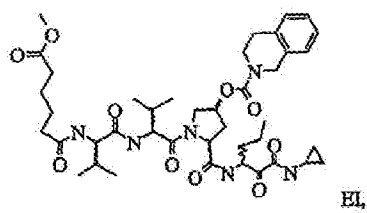
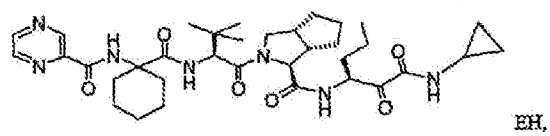
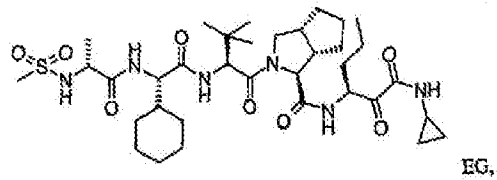
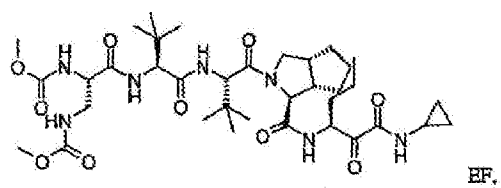
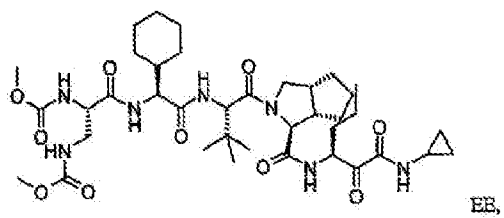
EB,

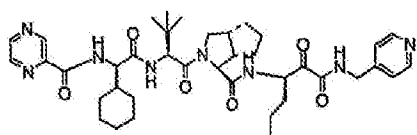


EC,

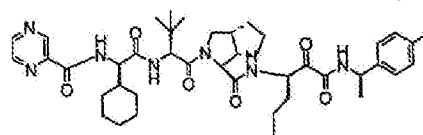


ED,

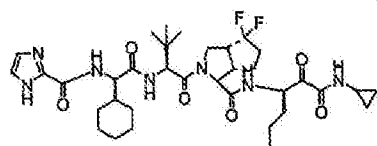




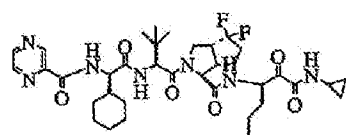
EL,



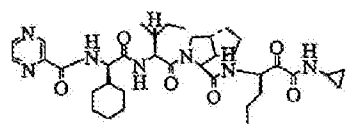
EM,



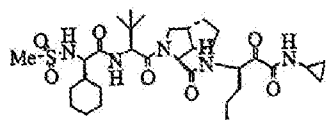
EN,



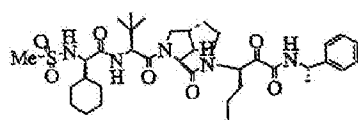
EO,



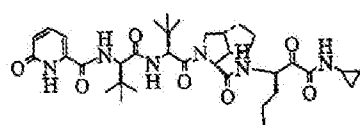
EP,



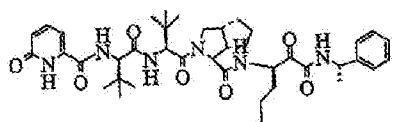
EQ,



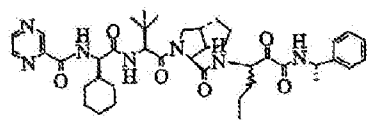
ER,



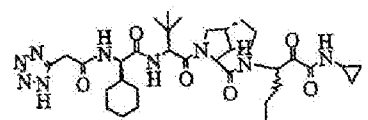
ES,



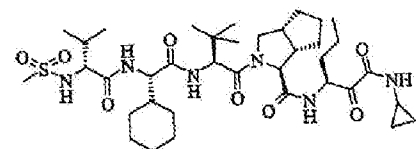
ET,



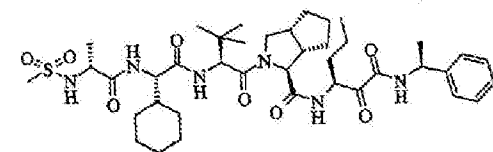
EU,



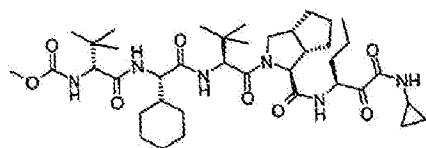
EV,



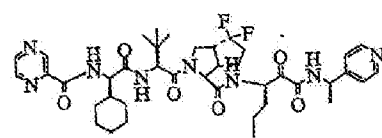
EW,



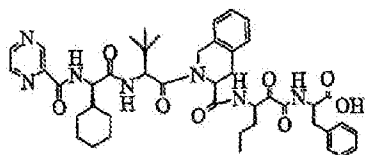
EX,



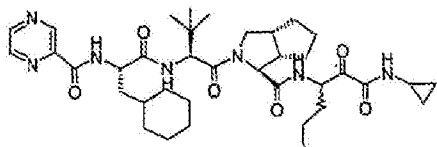
EY,



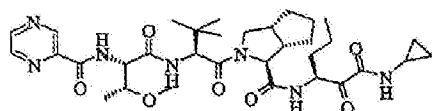
EZ,



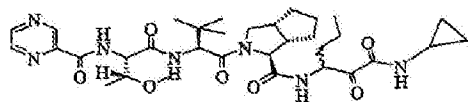
FA,



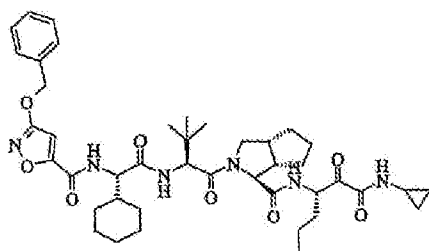
FB,



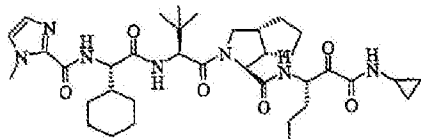
FC,



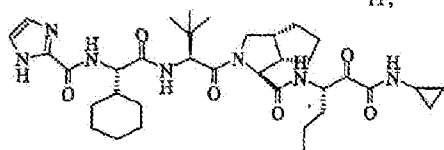
FD,



FE,

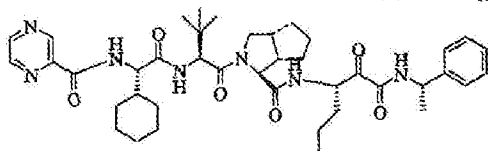


FF,



FG,

та

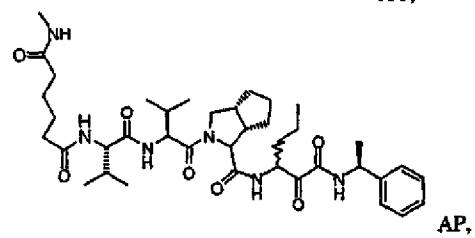
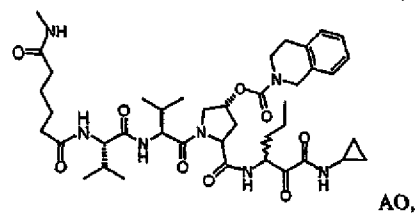
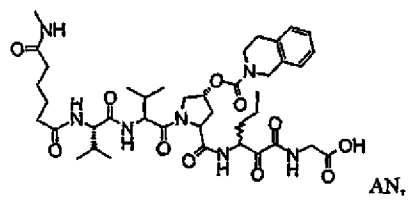


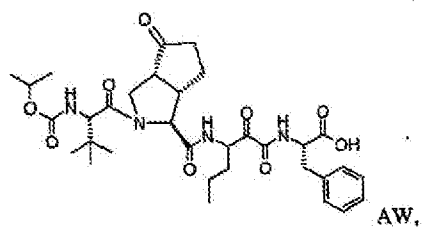
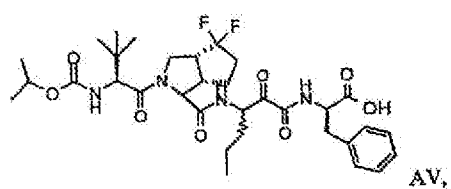
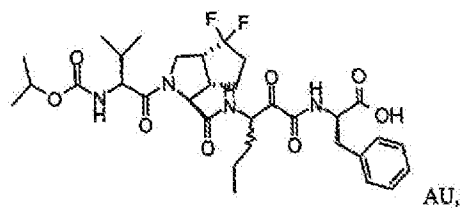
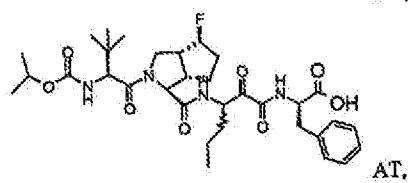
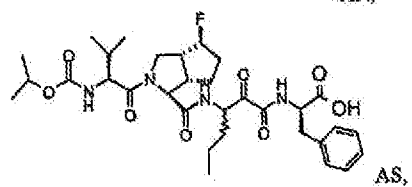
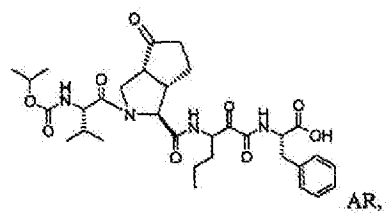
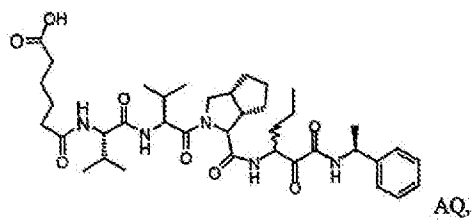
FH,

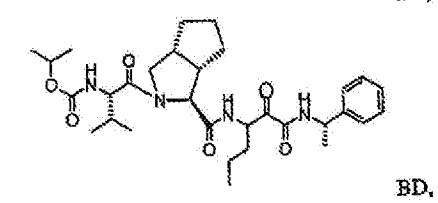
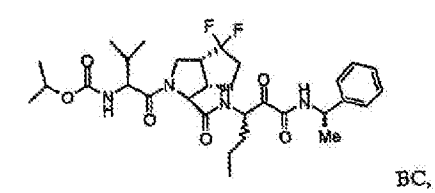
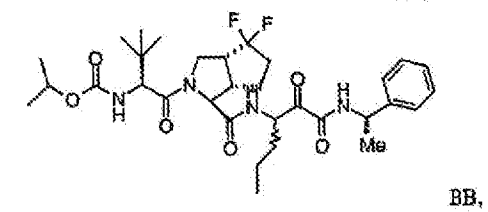
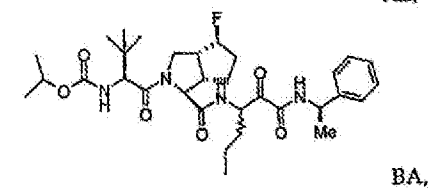
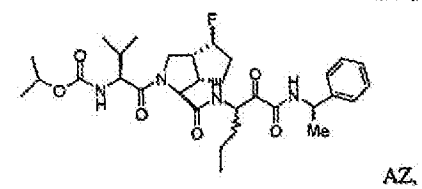
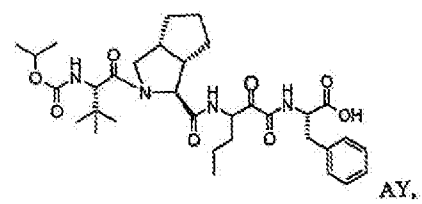
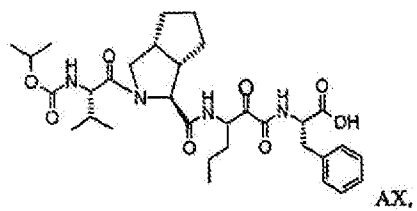
або фармацевтично прийнятні солі чи проліки згаданих сполук або сольвати таких сполук, їхніх солей чи проліків.

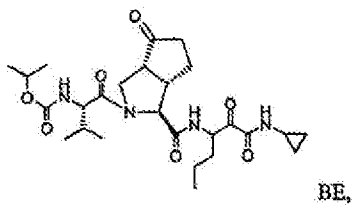
Перевага віддається сполукам, вибраним із групи, до якої входять сполуки S, U, BW, BX, BY, BZ, CE, CU, CW, CY, DZ, EA, EC, EJ, FH, EW, EO, EZ, FG та EN, фармацевтично прийнятні солі чи проліки згаданих сполук або сольвати таких сполук, їхніх солей чи проліків.

Іншим варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, вибрана з поданої нижче групи сполук:

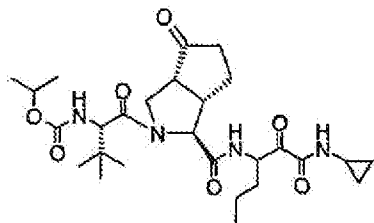




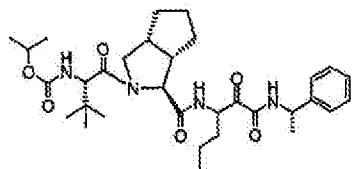




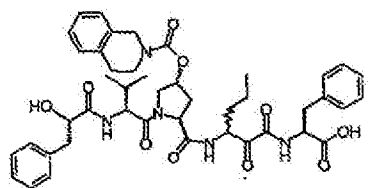
BE,



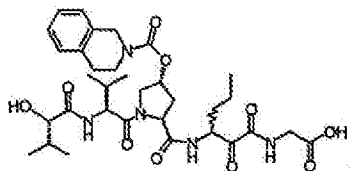
BF,



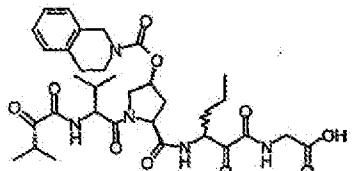
BG,



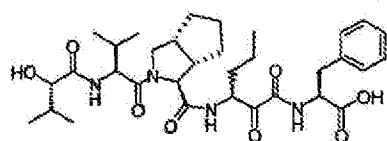
BH,



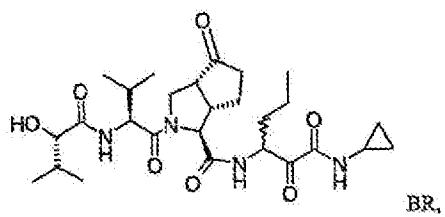
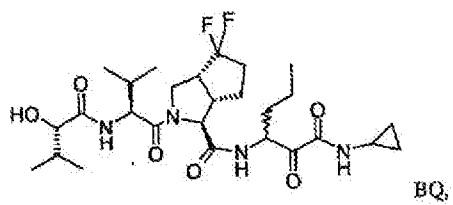
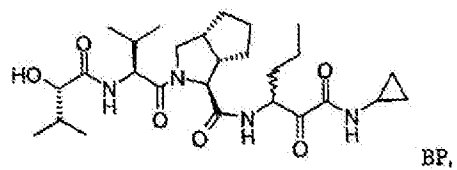
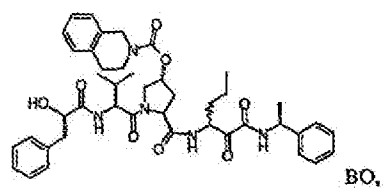
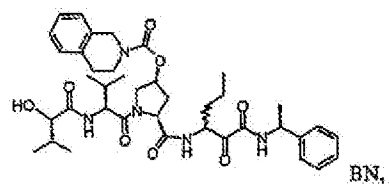
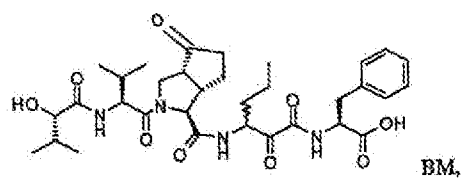
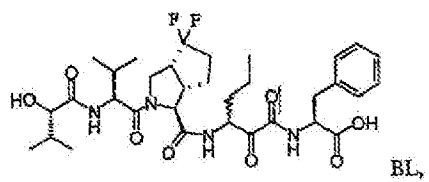
BI,

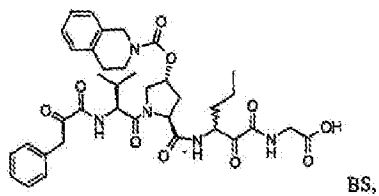


BJ,

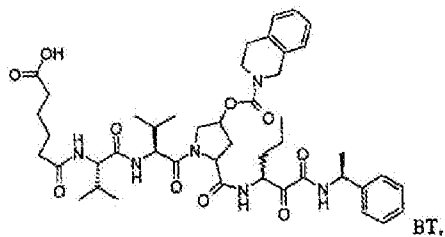


BK,

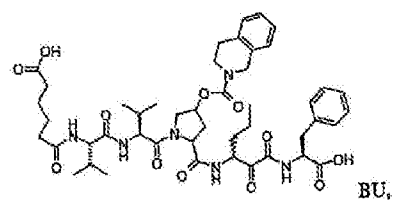




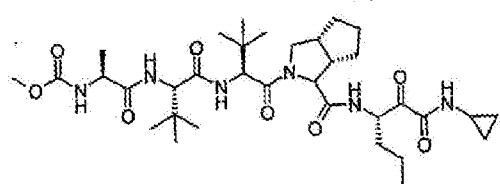
BS,



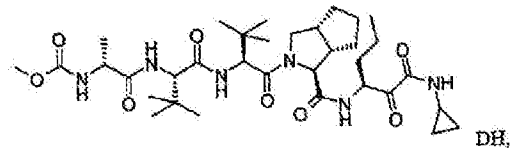
BT,



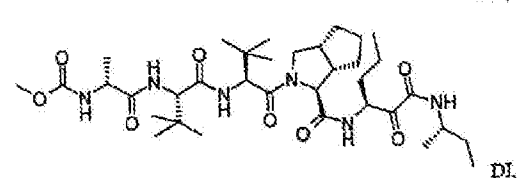
BU,



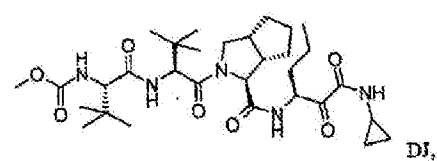
DG,



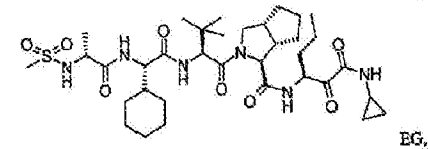
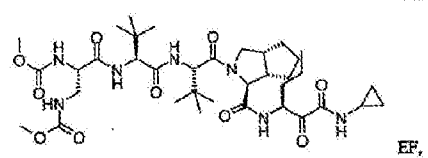
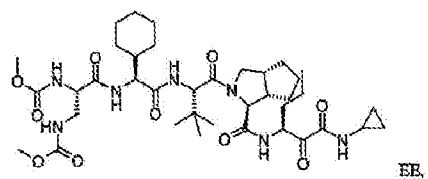
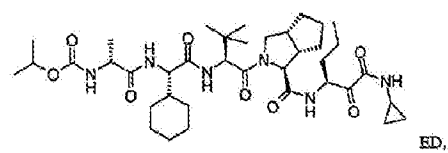
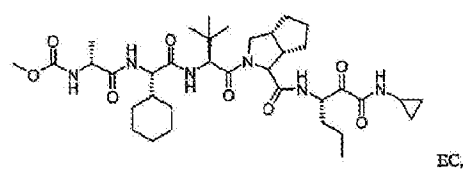
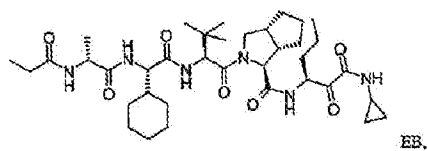
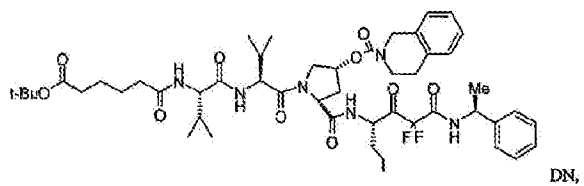
DH,

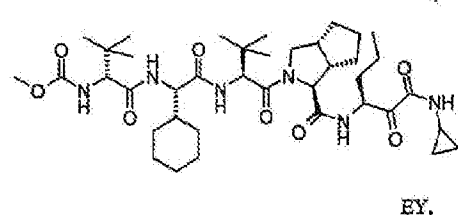
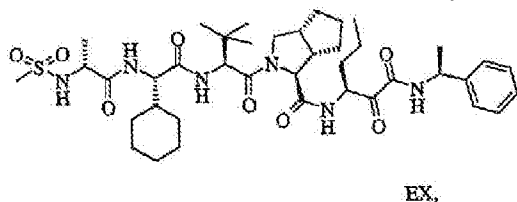
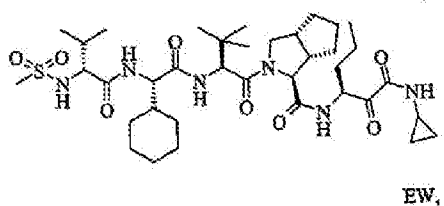
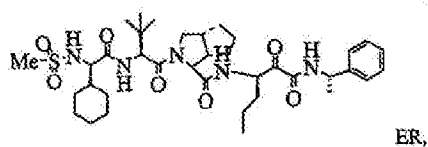
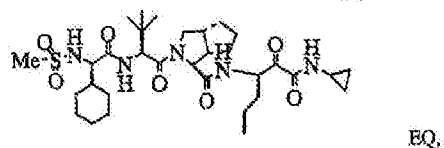
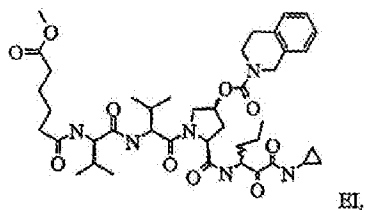
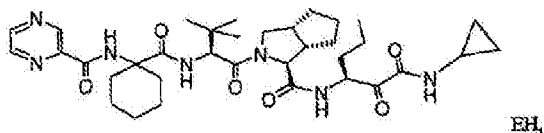


DI,



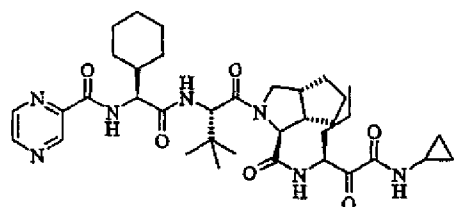
DJ,





або фармацевтично прийнятна сіль чи проліки згаданої сполуки або сольват такої сполуки, її солі чи проліків.

Іншим варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука формули



або фармацевтично прийнятна сіль чи проліки згаданої сполуки або сольват такої сполуки, її солі чи проліків.

Ще одним варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука формули 1, де:

R⁰ є зв'язок;

R¹ є водень;

R² є нижчий алкіл, факультативно заміщений 1-3 замісниками при аліфатичній групі, або нижчий циклоалкіл, факультативно зміщений 1-3 замісниками при циклічній групі;

кожний з R³ та R⁵ незалежно від іншого є метилен, факультативно заміщений 1-3 замісниками при аліфатичній групі;

R⁴, R⁶, R⁸ та R¹⁰ є атоми водню;

R⁷ є метилен, заміщений циклоалкілом, нижчим алкілом або арилом; або (1,1- або 1,2-)циклоалкеніл, факультативно заміщений циклоалкілом, нижчим алкілом або арилом;

R⁹ є

нижчий алкіл, факультативно заміщений 1-3 замісниками при аліфатичній групі; або

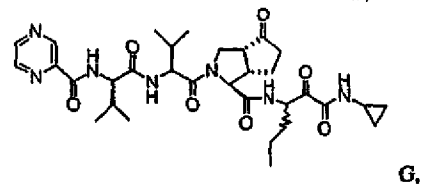
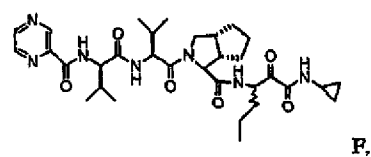
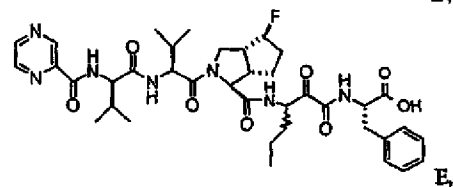
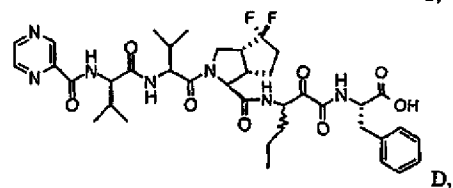
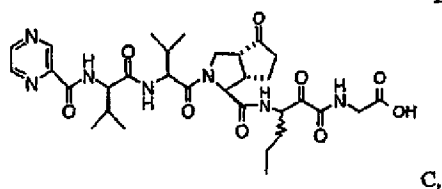
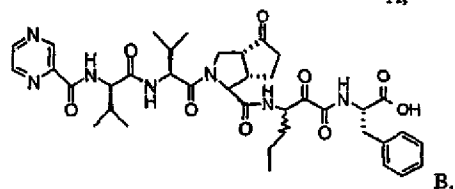
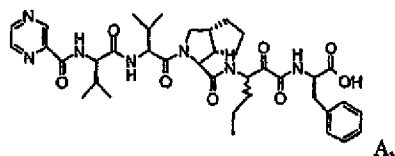
гетероарил, факультативно заміщений 1-3 замісниками при циклічній групі; або
гетероциклічна група, факультативно заміщена 1-3 замісниками при циклічній групі;

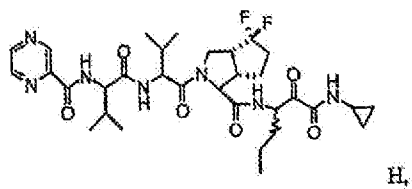


є моноциклічний азагетероциклі, поліциклічний азагетероциклі або поліциклічний азагетероциклі, факультативно заміщений 1-3 замісниками при циклічній групі; і

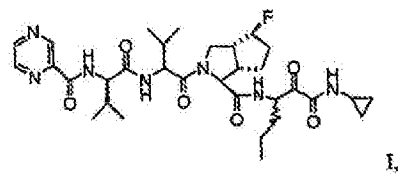
L є -C(O)-, -OC(O)-.

Іншим варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука, вибрана із групи, до якої входять:

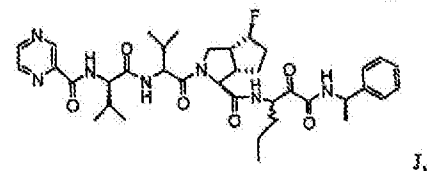




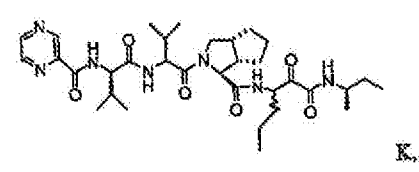
H,



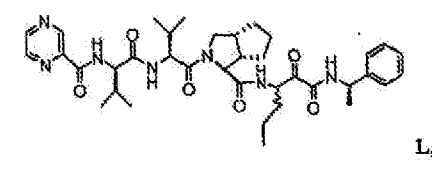
I,



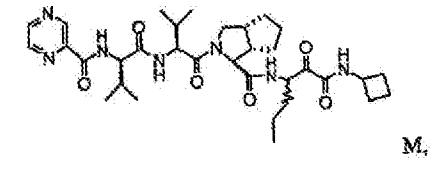
J,



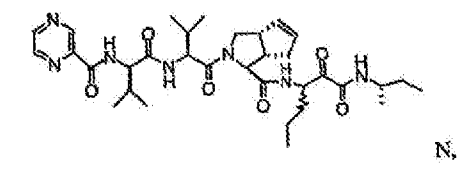
K,



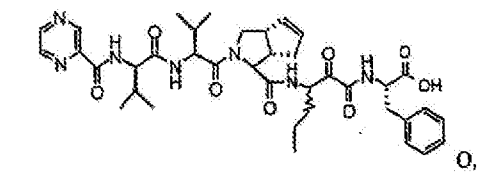
L,



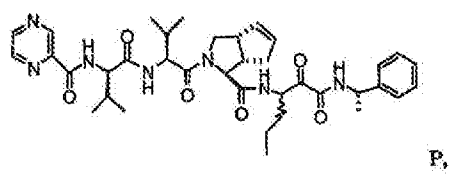
M,



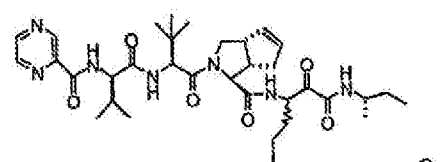
N,



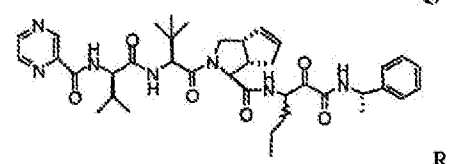
O,



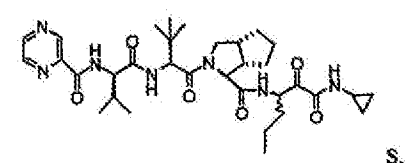
P,



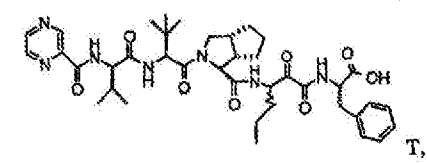
Q,



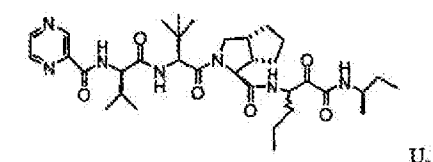
R,



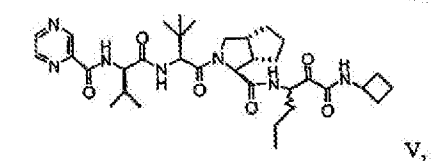
S,



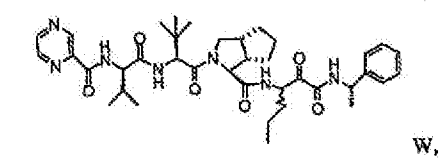
T,



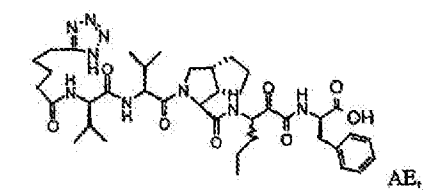
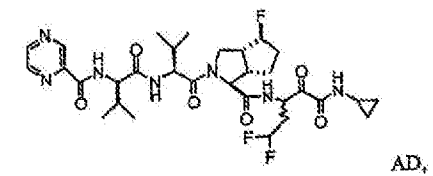
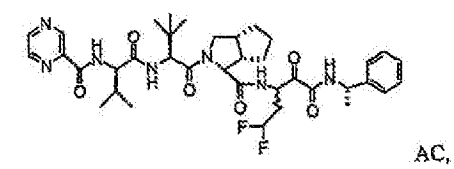
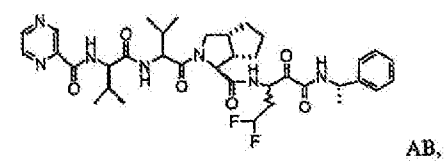
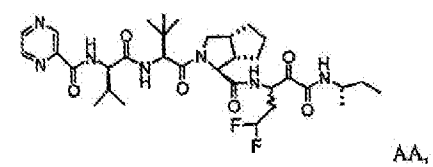
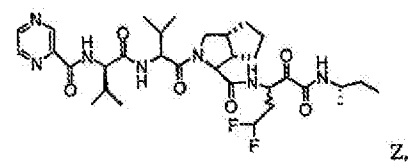
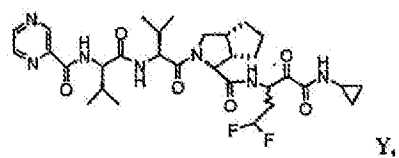
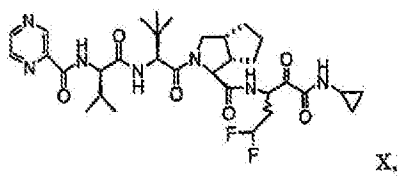
U,

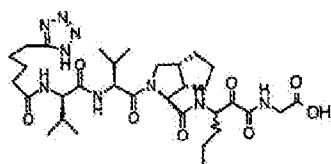


V,

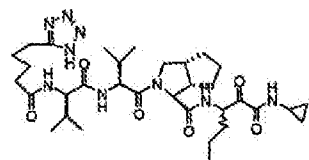


W,

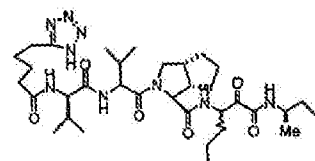




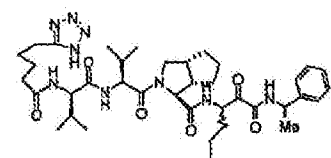
AF,



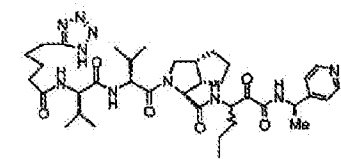
AG,



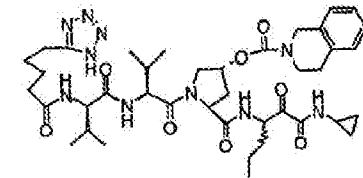
AH,



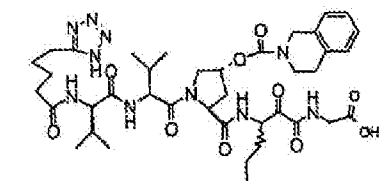
AI,



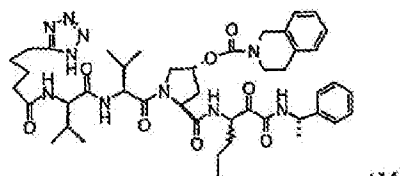
AJ,



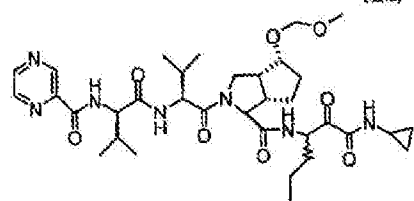
AK,



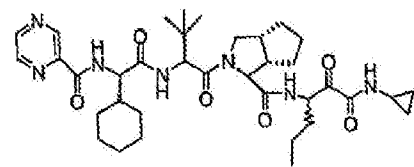
AL,



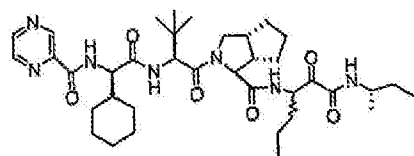
AM,



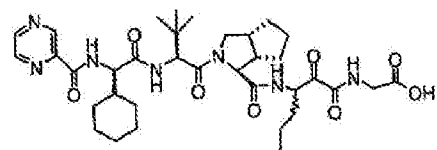
BV,



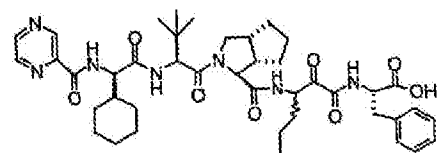
BW,



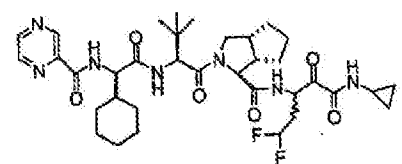
BX,



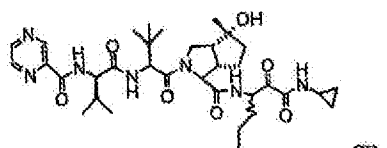
BY,



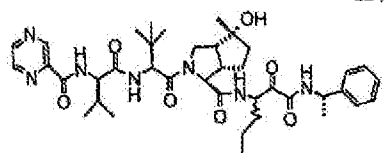
BZ,



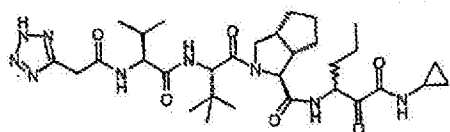
CA,



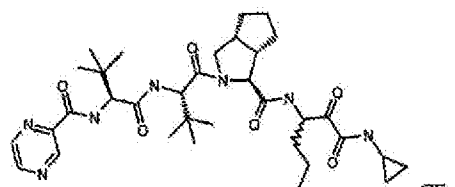
CB,



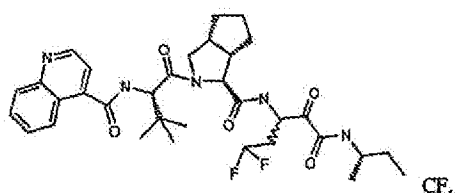
CC,



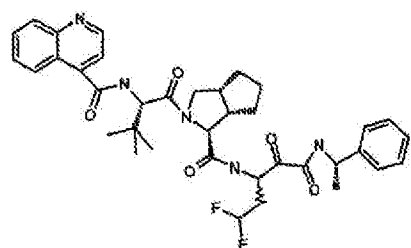
CD,



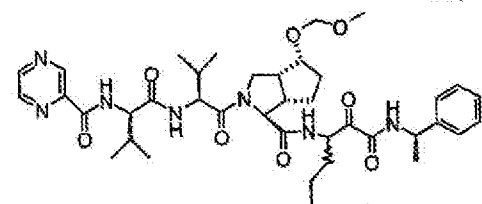
CE,



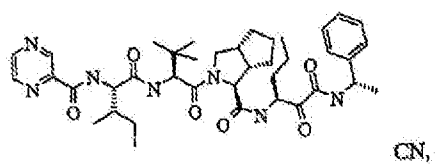
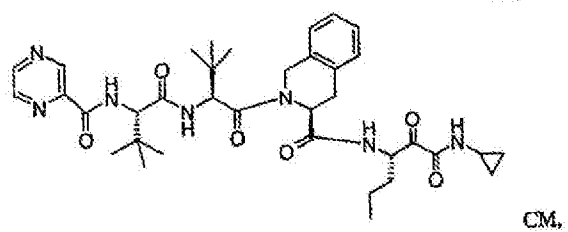
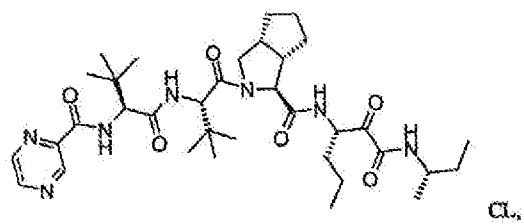
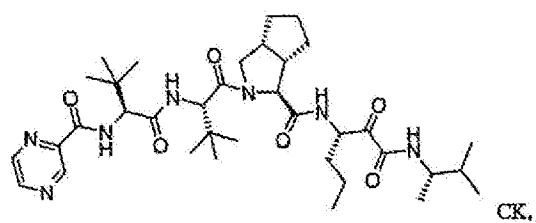
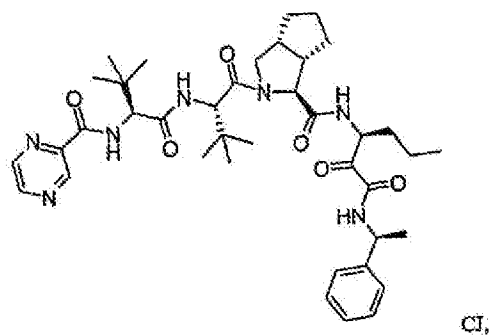
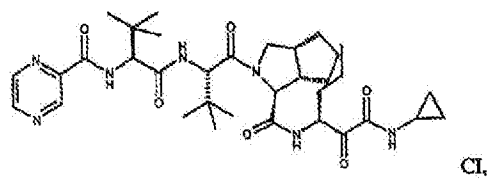
CF,

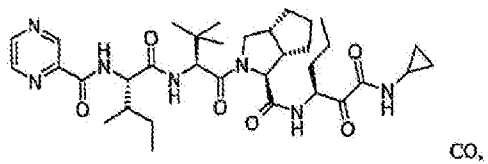


CG,

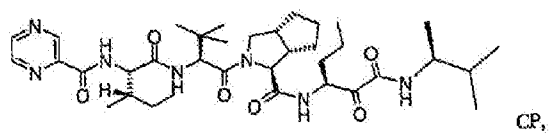


CH,

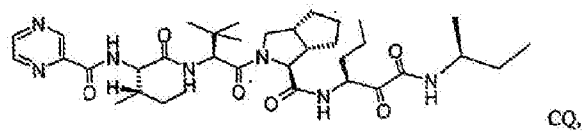




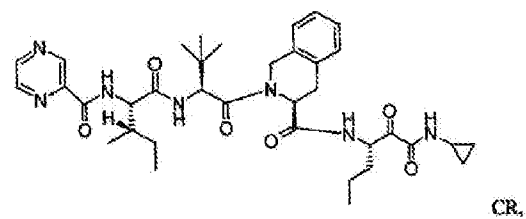
CO,



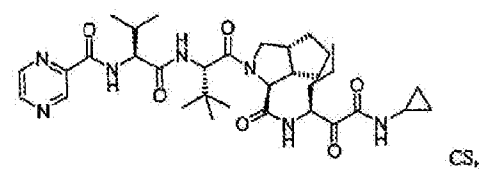
CP,



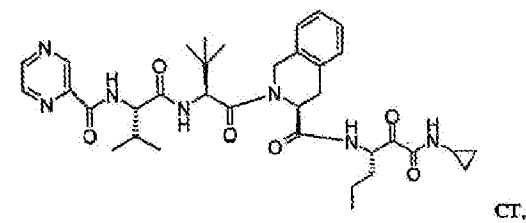
CQ,



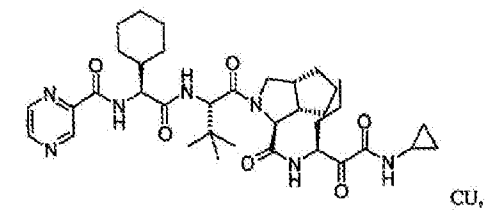
CR,



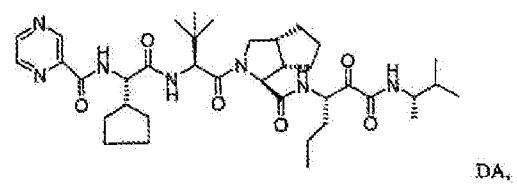
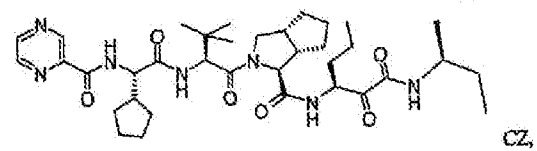
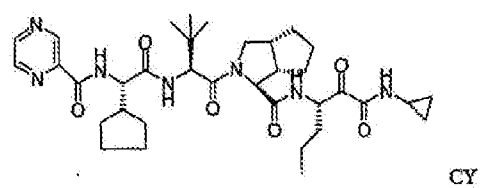
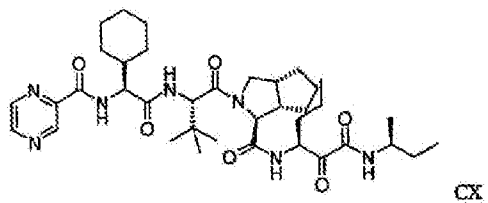
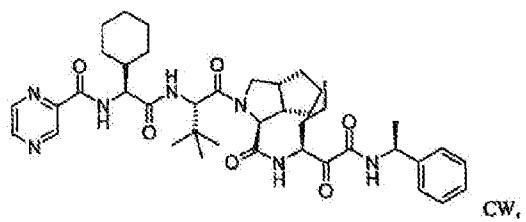
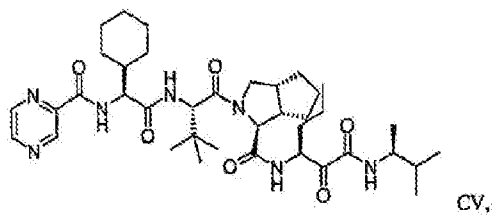
CS,

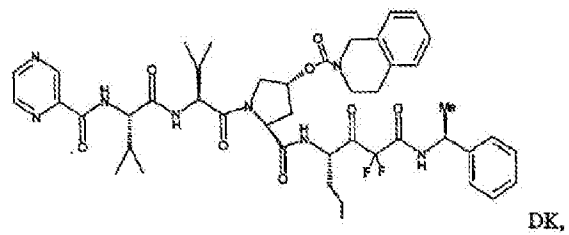
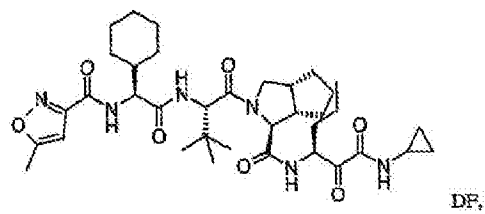
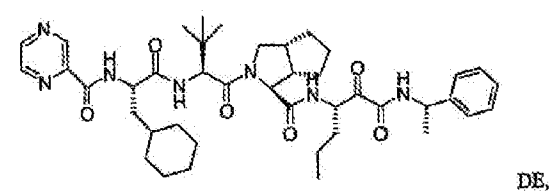
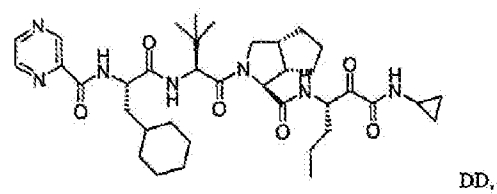
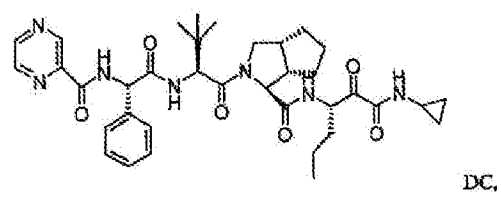
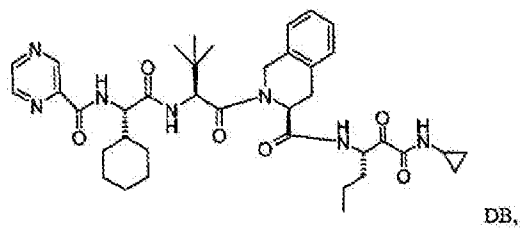


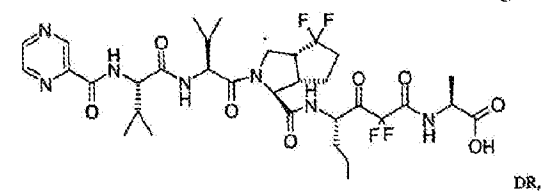
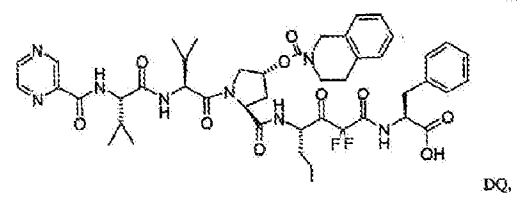
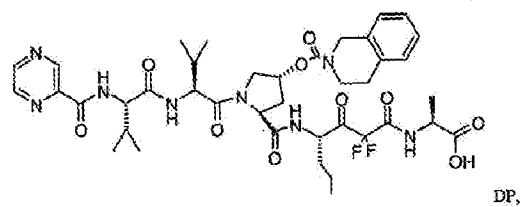
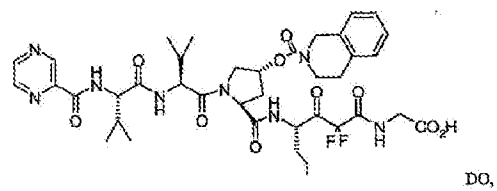
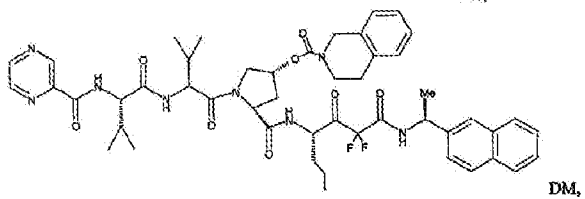
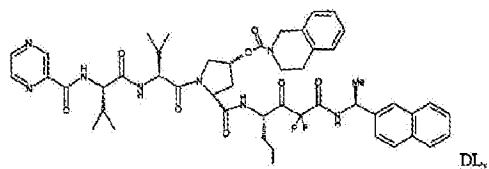
CT,

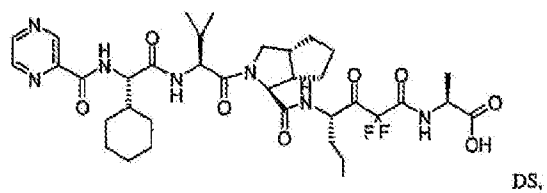


CU,

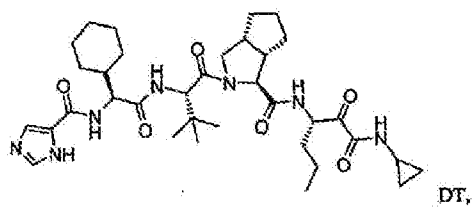




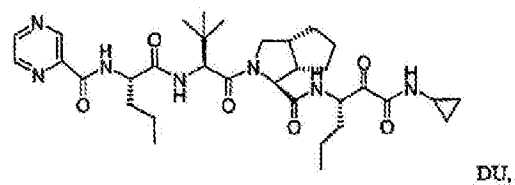




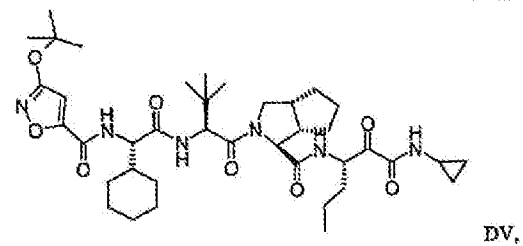
DS,



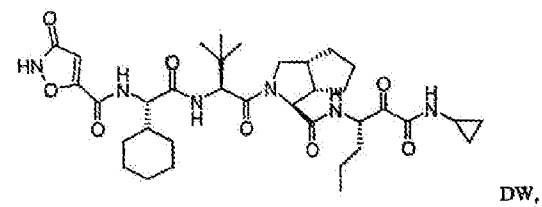
DT,



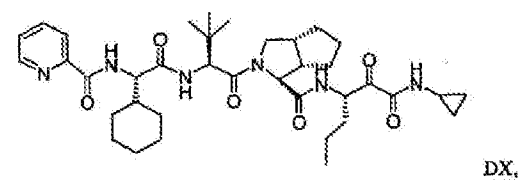
DU,



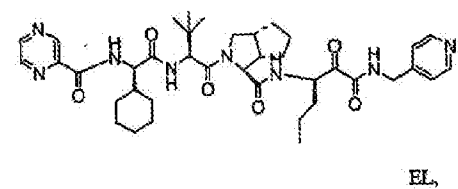
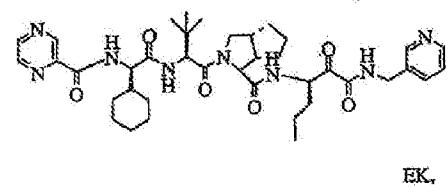
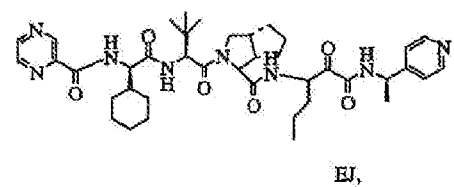
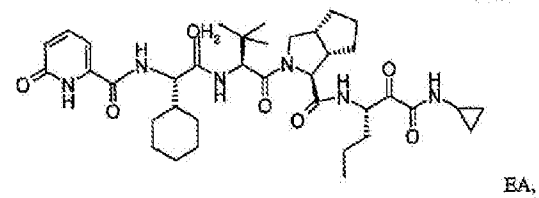
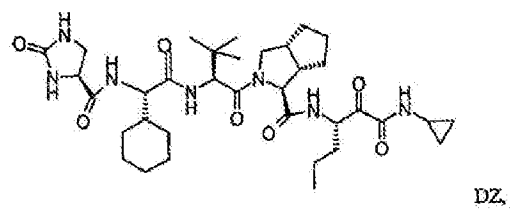
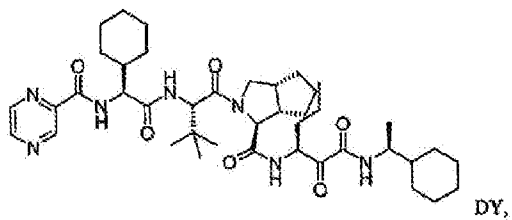
DV,

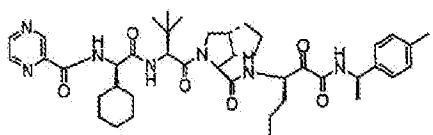


DW,

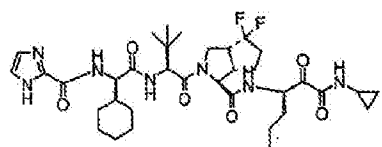


DX,

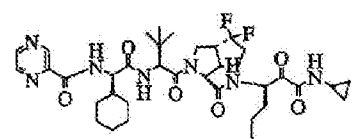




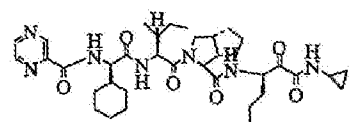
EM,



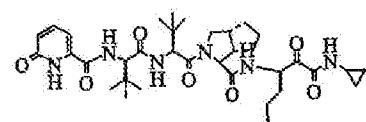
EN,



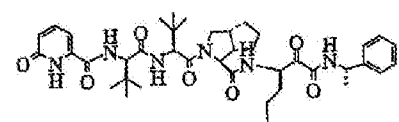
EO,



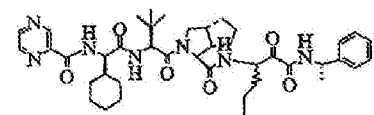
EP,



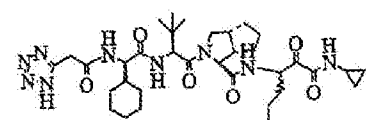
ES,



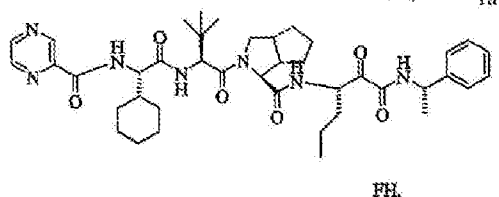
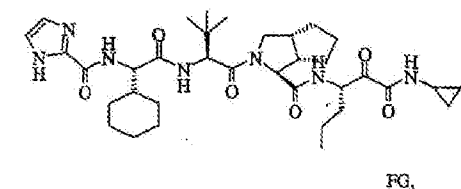
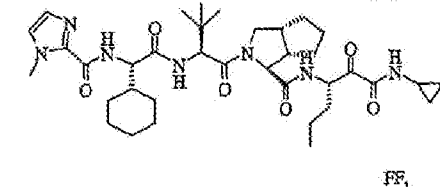
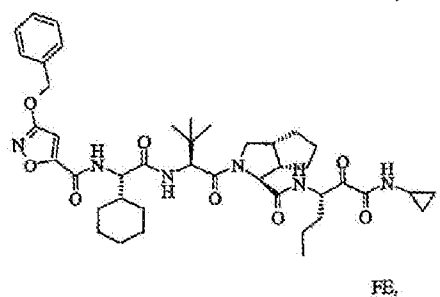
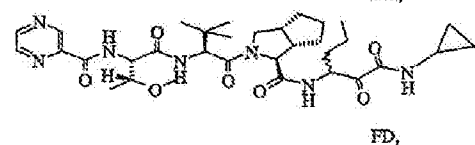
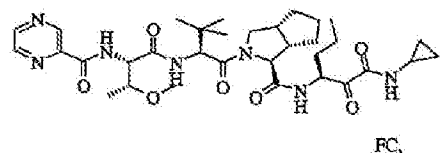
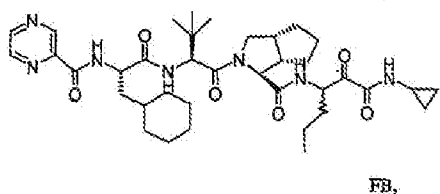
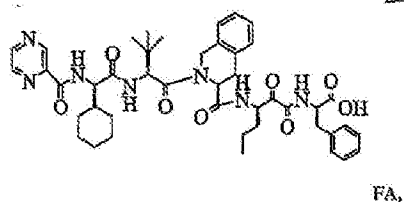
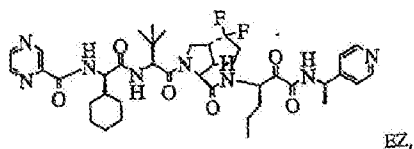
ET,



EU,



EV,



або фармацевтично прийнятна сіль чи проліки згаданої сполуки або сольват такої сполуки, її солі чи проліків.

Ще одним варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука формули 1, де факультативно заміщена аліфатична група, факультативно заміщена циклічна група або факультативно заміщена ароматична група фрагмента R^9 заміщена щонайменше одним гетероарильним замісником.

Іншим варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука формули 1, де факультативно заміщена ароматична група фрагмента R^9 є факультативно заміщений гетероарил.

Іншим варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука формули 1, де факультативно заміщена аліфатична група фрагмента R^9 є факультативно заміщений алкілгетероарил.

Іншим варіантом здійснення винаходу, якому віддається перевага, є сполука формули 1, де факультативно заміщена гетероарильна група R⁹ є піразиніл, тетразоліл, хінолініл, імідазоліл, ізоксазоліл та піридиніл, факультативно заміщений замісником при циклічній групі.

Сполуки, надані цим винаходом, можуть факультативно випускатися у формі солей. Такі солі, які є фармацевтично прийнятними, викликають особливий інтерес, оскільки вони є корисними для застосування з медичною метою. Солі, які не є фармацевтично прийнятними, корисні в процесі виготовлення сполук із точки зору виділення та очищення, а в деяких випадках з точки зору застосування при розділенні стереоізомерних форм сполук, наданих цим винаходом. Останнє стосується, зокрема, солей амінів, одержаних із застосуванням оптично активних амінів.

У випадках, коли сполука, надана цим винаходом, містить карбоксильну групу або біоізомерну групу достатньої кислотності, можна одержувати солі основ, які є більш простими та зручними при використанні; в практиці застосування сольових форм рівнозначне застосуванню вільних кислотних форм.

Крім того, у випадках, коли сполука, надана цим винаходом, містить основну групу або біоізомерну групу достатньої основності, можна одержувати солі кислот, які є більш простими та зручними при використанні; в практиці застосування сольових форм рівнозначне застосуванню вільних основних форм.

Варіантом здійснення способу згідно з цим винаходом, якому віддається перевага, є застосування для лікування пацієнта, що страждає на інфекцію HCV або фізіологічний стан, пов'язаний із такою інфекцією, способу, який включає введення в організм пацієнта фармацевтично ефективної кількості сполуки формули 1.

Іншим варіантом здійснення способу терапії згідно з цим винаходом, якому віддається перевага, є застосування для лікування пацієнта, що страждає на інфекцію HCV або фізіологічний стан, пов'язаний з такою інфекцією, способу, який включає введення в організм пацієнта фармацевтично ефективної кількості сполуки формули 1 в комбінації з фармацевтично ефективною кількістю іншого лікувального засобу, активного проти HCV.

Ще одною метою цього винаходу є запропонувати фармацевтичні композиції, які включають, крім одного або кількох інгібіторів серинпротеази HCV, один або кілька інтерферонів, активних проти HCV, та/або одну або кілька сполук, активних проти HCV, в тому числі імуномодуляторні сполуки, наприклад, імуностимуляторні цитокіни, що проявляють антивірусну активність відносно HCV, та фармацевтично прийнятний носій.

Іншою метою цього винаходу є запропонувати фармацевтичну композицію, яка сама по собі є ефективною при застосуванні в комплексній терапії, оскільки вона включає кілька активних інгредієнтів, які можуть бути застосовані згідно з цим винаходом.

Цей винахід пропонує також набори або комплекти, які включають два або більше активних інгредієнтів, корисних для лікування або профілактики інфекції HCV у пацієнта. Набір може включати одну або кілька сполук формули 1 (окремо або в сполученні з фармацевтично прийнятним носієм або розріджувачем) та додатковий активний інгредієнт (окремо або в сполученні з фармацевтично прийнятним носієм або розріджувачем), що є іншим лікарським засобом, активним проти HCV.

Сполуки формули 1 можна одержати шляхом застосування або адаптації відомих способів, які використовувалися раніше або описані в літературі, або способами згідно з цим винаходом, поданими в цьому описі.

Ще однією метою цього винаходу є запропонувати способи лікування або профілактики інфекції HCV у пацієнта, що потребує такого втручання, які включають введення в організм згаданого пацієнта фармацевтично ефективної кількості комбінації одного або кількох інгібіторів серинпротеази HCV; одного або кількох інтерферонів, активних проти HCV, та/або однієї або кількох сполук, активних проти HCV, в тому числі імуномодуляторних сполук, наприклад, імуностимуляторних цитокінів, що проявляють антивірусну активність відносно HCV.

Іншою метою цього винаходу є застосування одного або кількох інгібіторів серинпротеази HCV в комбінації з одним або кількома інтерферонами, активними проти HCV, та/або однією або кількома сполуками, активними проти HCV, в тому числі з імуномодуляторними сполуками, наприклад, імуностимуляторними цитокінами, що проявляють антивірусну активність відносно HCV, для виготовлення лікарських засобів для лікування або профілактики інфекції HCV у пацієнта, що потребує такого втручання.

Ще одною метою цього винаходу є набір або фармацевтична упаковка для лікування або профілактики інфекції HCV у пацієнта, причому згаданий набір або фармацевтична упаковка включає в себе кілька окремих контейнерів, причому щонайменше один зі згаданих контейнерів містить один або кілька інгібіторів серинпротеази HCV; щонайменше один з інших згаданих контейнерів містить один або кілька інтерферонів або сполук, що індукують продукування інтерферонів, які активні проти HCV (окремо або в сполученні з фармацевтично прийнятним носієм або розріджувачем); і факультативно щонайменше один з інших згаданих контейнерів містить одну або кілька сполук, активних проти HCV (окремо або в сполученні з фармацевтично прийнятним носієм або розріджувачем), в тому числі імуномодуляторні сполуки, наприклад, імуностимуляторні цитокіни, що проявляють антивірусну активність відносно HCV.

Ще однією метою цього винаходу є запропонувати спосіб інгібування реплікації вірусу гепатиту С у клітині, який включає введення в контакт згаданої клітини, інгібітора серинпротеази вірусу гепатиту С і факультативно інтерферону або сполук, що індукують продукування інтерферону, який виявляє активність проти вірусу гепатиту С.

Кількість інгібітора (інгібіторів) серинпротеази HCV, інтерферону (інтерферонів) або сполуки (сполук), активних проти HCV, у будь-якому з вищезгаданих варіантів застосування може являти собою фармацевтично ефективну кількість, субоптимальну ефективну кількість або комбінацію таких кількостей, за умови, що кінцева комбінація інгібітора (інгібіторів) серинпротеази HCV, інтерферону (інтерферонів) та/або сполуки (сполук), активних проти HCV, становить фармацевтично ефективну кількість сполук, ефективну при лікуванні або профілактиці інфекції HCV у пацієнта.

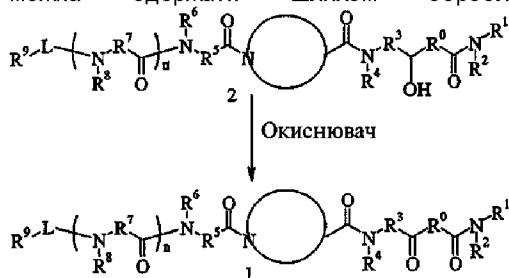
Ще однією метою цього винаходу є запропонувати спосіб одержання хіральної сполуки типу біциклопролінату, корисної при одержанні сполуки формули 1.

Вихідні матеріали та проміжні продукти для синтезу сполук, наданих цим винаходом, можна одержати

шляхом застосування або адаптації відомих способів, наприклад, способів, описаних у Прикладах порівняння, або їхніх очевидних хімічних еквівалентів.

Сполуки, надані цим винаходом, можна одержати шляхом застосування або адаптації відомих способів, де "відомі" означає способи, що застосовувалися раніше або описані в літературі, наприклад, способами, які описані в монографії Ларока [R.C. Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publ., 1989].

Сполуку формули 1, де змінні групи та фрагмент  відповідають поданим вище визначенням, можна одержати шляхом оброблення сполуки формули 2, де змінні групи

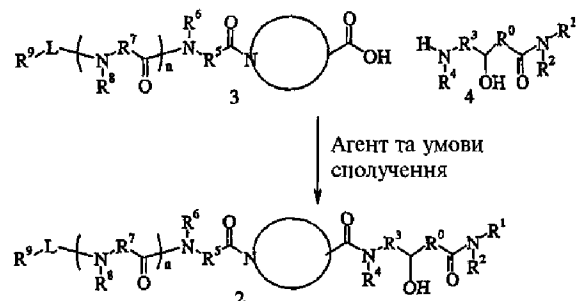


та фрагмент  відповідають поданим вище визначенням, придатним окиснювальним агентом у відповідних умовах.

Конкретним окиснювальним агентом є йодний реактив Десса-Мартіна. Конкретні умови включають виконання окиснення у придатному органічному розчиннику, наприклад, у хлористому метиліні, і при температурі, близькій до кімнатної температури.

Сполуку формули 2, де змінні групи та фрагмент  відповідають поданим вище визначенням,

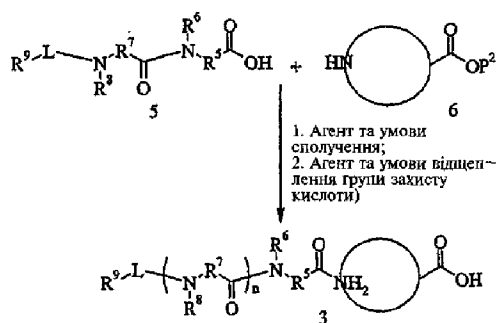
можна одержати шляхом сполучення сполуки формули 3, де змінні групи та фрагмент  відповідають поданим вище визначенням, зі сполукою формули 4, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, з використанням придатного агента сполучення у відповідних умовах.



Конкретні агент та умови сполучення включають використання 1,3-діізо-пропілкарбодіміду та 1-гідрокси-7-азабензотриазолу у відповідному органічному розчиннику, наприклад, у ДМФ, при температурі приблизно 0°C або використання гексафторфосфату бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідінфосфонію та діізопропілетиламіну у придатному органічному розчиннику, наприклад, в хлористому метиліні, при температурі, близькій до кімнатної температури.

Сполуку формули 3, де змінні групи та фрагмент  відповідають поданим вище визначенням, можна одержати шляхом сполучення сполуки формули 5, де змінні групи відповідають поданим вище

визначенням, зі сполукою формули 6, де R² є група захисту кислоти, а фрагмент  відповідає поданому вище визначенню, з використанням придатного агента сполучення у відповідних умовах, з наступним використанням придатного агента відщеплення групи захисту та у відповідних умовах її відщеплення.



Конкретні агент та умови сполучення включають використання 1,3-діізопропілкарбодіміду або дициклокарбодіміду та 1-гідрокси-7-азабензотриазолу у придатному органічному розчиннику, наприклад, у ДМФ або хлористому метиліні, при температурі від приблизно 0°C до кімнатної температури. Відщеплення

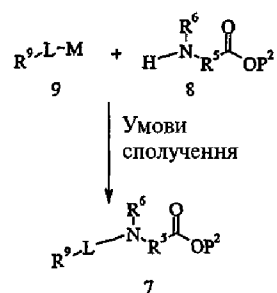
групи захисту виконують із застосуванням придатного агента відщеплення, який залежить від природи групи захисту, тобто від її здатності відщеплюватися (лабільності) під впливом кислоти, основи або гідрування, та від природи інших реакційноздатних груп сполуки, від якої відщеплюється група захисту, тобто агент відщеплення добирають так, щоб провести відщеплення групи захисту без взаємодії з іншими реакційноздатними групами, якщо супутні реакції є небажаними. Конкретним агентом захисту кислоти є нижчий алкіл C₁-C₈, більш конкретно, метил. Конкретним агентом відщеплення групи захисту є неорганічна основа, наприклад, гідроксид лужного металу, більш конкретно, гідроксид натрію. Конкретні умови відщеплення групи захисту включають проведення реакції в спиртовому розчиннику, наприклад, в метанолі або в етанолі, при температурі, близькій до кімнатної температури.

Сполуку формули 5, де n є 0, а інші змінні групи відповідають поданим вище визначенням, тобто сполуку 5a, можна одержати шляхом відщеплення групи захисту від сполуки 7, де P² є група захисту кислоти, а інші змінні групи відповідають поданим вище визначенням, із використанням придатного агента відщеплення у відповідних умовах.



Відщеплення групи захисту виконують із застосуванням придатного агента відщеплення, який залежить від природи групи захисту, тобто від її здатності відщеплюватися (лабільності) під впливом кислоти, основи або гідрування, та від природи інших реакційноздатних груп сполуки, від якої відщеплюється група захисту, тобто агент відщеплення вибирають так, щоб провести відщеплення групи захисту без взаємодії з іншими реакційноздатними групами, якщо супутні реакції є небажаними. Конкретним агентом захисту кислоти є нижчий алкіл C₁-C₈, більш конкретно, метил. Конкретним агентом відщеплення групи захисту є неорганічна основа, наприклад, гідроксид лужного металу, більш конкретно, гідроксид натрію. Конкретні умови відщеплення групи захисту включають проведення реакції в спиртовому розчиннику, наприклад, в метанолі або в етанолі, при температурі, близькій до кімнатної температури.

Сполуку формули 7, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, можна одержати шляхом ацилювання сполуки формули 8, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, сполукою формули 9, де M є заміщуваний фрагмент, а інші змінні групи відповідають поданим вище визначенням, у відповідних умовах.



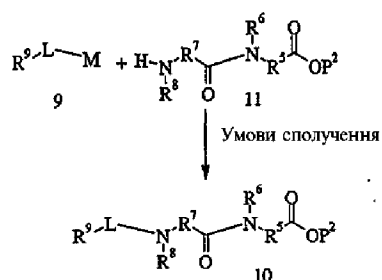
Конкретні умови сполучення включають використання 1,3-діізо-пропілкарбодііміду або дициклокарбодііміду та 1-гідрокси-7-азабензотриазолу у придатному органічному розчиннику, наприклад, у ДМФ або хлористому метилені, при температурі від приблизно 0°C до кімнатної температури, або використання гексафторфосфату бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідінфосфонію та діізопропілетиламіну у придатному органічному розчиннику, наприклад, в ДМФ або хлористому метилені, при температурі, близькій до кімнатної температури; перевага віддається останньому варіанту. Конкретною групою L є карбоніл. Конкретними групами M є гідроксил або N-оксисукцинімід.

Сполуку формули 5, де n є 1, а інші змінні групи відповідають поданим вище визначенням, тобто сполуку 5b, можна одержати шляхом відщеплення групи захисту від сполуки 10, де P² є група захисту кислоти, а інші змінні групи відповідають поданим вище визначенням, із використанням придатного агента відщеплення у відповідних умовах.



Відщеплення групи захисту виконують із застосуванням придатного агента відщеплення, який залежить від природи групи захисту, тобто від її здатності відщеплюватися (лабільності) під впливом кислоти, основи або гідрування, та від природи інших реакційноздатних груп сполуки, від якої відщеплюється група захисту, тобто агент відщеплення вибирають так, щоб провести відщеплення групи захисту без взаємодії з іншими реакційноздатними групами, якщо супутні реакції є небажаними. Конкретним агентом захисту кислоти є нижчий алкіл C₁-C₈, більш конкретно, метил. Конкретним агентом відщеплення групи захисту є неорганічна основа, наприклад, гідроксид лужного металу, більш конкретно, гідроксид натрію. Конкретні умови відщеплення групи захисту включають проведення реакції в спиртовому розчиннику, наприклад, в метанолі або в етанолі, при температурі, близькій до кімнатної температури.

Сполуку формули 10, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, можна одержати шляхом ацилювання сполуки формули 11, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, сполукою формули 9, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, із використанням придатного агента сполучення у відповідних умовах.



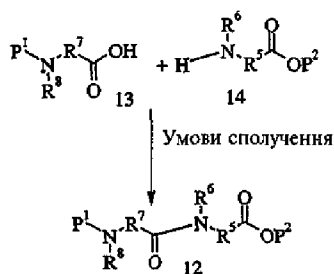
Конкретні агент та умови сполучення включають використання 1,3-діізо-пропілкарбодііміду або дициклокарбодііміду та 1-гідрокси-7-азабензотриазолу у придатному органічному розчиннику, наприклад, у ДМФ або хлористому метилені, при температурі від приблизно 0°C до кімнатної температури, або використання гексафторфосфату бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідінфосфонію та діізопропілетиламіну у придатному органічному розчиннику, наприклад, в ДМФ або хлористому метилені, при температурі, близькій до кімнатної температури; перевага віддається останньому варіанту. Конкретною групою L є карбоніл. Конкретними групами M є гідроксил або N-оксисуқцинимід.

Сполуку формули 11, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, можна одержати шляхом відщеплення групи захисту від сполуки формули 12, де P¹ є група захисту аміну, а інші змінні групи відповідають поданим вище визначенням, із використанням придатного агента відщеплення у відповідних умовах.



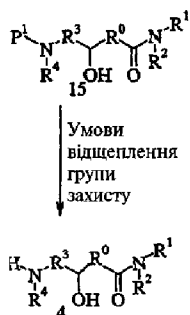
Відщеплення групи захисту виконують із застосуванням придатного агента відщеплення, який залежить від природи групи захисту, тобто від її здатності відщеплюватися (лабільності) під впливом кислоти, основи або гідрування, та від природи інших реакційноздатних груп сполуки, від якої відщеплюється група захисту, тобто агент відщеплення вибирають так, щоб провести відщеплення групи захисту без взаємодії з іншими реакційноздатними групами, якщо супутні реакції є небажаними. Конкретним агентом захисту аміну є група Cbz або BOC, більш конкретно, Cbz. Конкретним агентом відщеплення групи захисту є кислота, наприклад, хлористоводнева кислота, або водень із гідроксидом паладію (H₂/Pd(OH)₂), більш конкретно, H₂/Pd(OH)₂. Конкретні умови відщеплення групи захисту включають проведення реакції в спиртовому розчиннику, наприклад, в метанолі або в етанолі, або в алкан-алканоаті, наприклад, в етилацетаті, при температурі, близькій до кімнатної температури.

Сполуку формули 12, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, можна одержати шляхом сполучення сполуки формули 13, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, зі сполукою формули 14, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, у відповідних умовах.



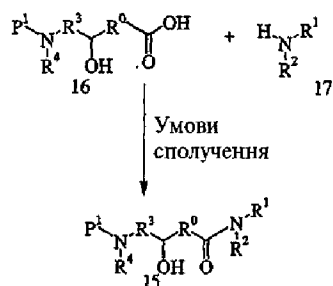
Конкретні умови сполучення включають використання 1-гідрокси-7-азабензотриазолу або 1,3-діізо-пропілкарбодіїміду та діізопропілетиламіну у придатному органічному розчиннику, наприклад, у тетрагідрофурані, при температурі, близькій до кімнатної температури.

Сполуку формули 4, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, можна одержати шляхом відщеплення групи захисту від сполуки формули 15, де P^1 є група захисту аміну, а інші змінні групи відповідають поданим вище визначенням, із використанням відповідного агента відщеплення у відповідних умовах.



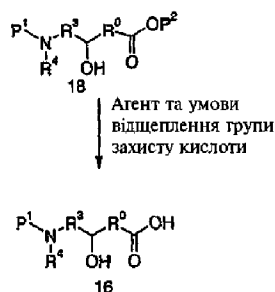
Відщеплення групи захисту виконують із застосуванням придатного агента відщеплення, який залежить від природи групи захисту, тобто, від її здатності відщеплюватися (лабільності) під впливом кислоти, основи або гідрування, та від природи інших реакційноздатних груп сполуки, від якої відщеплюється група захисту, тобто агент відщеплення вибирають так, щоб провести відщеплення групи захисту без взаємодії з іншими реакційноздатними групами, якщо супутні реакції є небажаними. Конкретним агентом захисту аміну є група Cbz або BOC, більш конкретно, Cbz. Конкретним агентом відщеплення групи захисту є кислота, наприклад, хлористоводнева кислота, або водень із гідроксидом паладію ($\text{H}_2/\text{Pd}(\text{OH})_2$), більш конкретно, $\text{H}_2/\text{Pd}(\text{OH})_2$. Конкретні умови відщеплення групи захисту включають проведення реакції в спиртовому розчиннику, наприклад, в метанолі або в етанолі, або в алкан-алканоаті, наприклад, в етилацетаті, при температурі, близькій до кімнатної температури.

Сполуку формули 15, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, можна одержати шляхом сполучення сполуки формули 16, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, зі сполукою формули 17, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, у відповідних умовах.



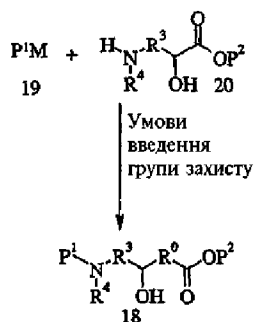
Конкретним агентом захисту аміну є група Cbz або BOC, більш конкретно, Cbz. Конкретні умови сполучення включають використання 1-гідрокси-бензотриазолу, гексафторфосфату бензотриазол-1-ілокситрис-піролідино-фосфонію та діізопропілетиламіну у придатному органічному розчиннику, наприклад, у хлористому метилені, при температурі від приблизно 0°C до кімнатної температури.

Сполуку формули 16, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, можна одержати шляхом відщеплення групи захисту від сполуки 18, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, з використанням придатного агента відщеплення у відповідних умовах.



Відщеплення групи захисту виконують із застосуванням придатного агента відщеплення, який залежить від природи групи захисту, тобто від її здатності відщеплюватися (лабільності) під впливом кислоти, основи або гідрування, та від природи інших реакційноздатних груп сполуки, від якої відщеплюється група захисту, тобто агент відщеплення вибирають так, щоб провести відщеплення групи захисту без взаємодії з іншими реакційноздатними групами, якщо супутні реакції є небажаними. Конкретним агентом захисту аміну є група Cbz. Конкретним агентом захисту кислоти є нижчий алкіл C₁-C₈, більш конкретно, метил. Конкретним агентом відщеплення групи захисту є неорганічна основа, наприклад, гідроксид лужного металу, більш конкретно, гідроксид натрію. Конкретні умови відщеплення групи захисту включають проведення реакції в спиртовому розчиннику, наприклад, в метанолі або в етанолі, при температурі, близькій до кімнатної температури.

Сполуку формули 18, де R⁰ є зв'язок, а інші змінні групи відповідають поданим вище визначенням, можна одержати шляхом введення групи захисту в сполуку формули 20, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, з використанням сполуки формули 19, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, у придатних умовах.



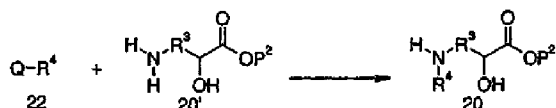
Конкретним агентом захисту аміну є група Cbz або BOC. Конкретні умови реакції включають застосування придатного органічного розчинника, наприклад, хлористого метилу, при температурі від приблизно 0°C до кімнатної температури.

Сполуку формули 20, де R⁴ є водень, а інші змінні групи відповідають поданим вище визначенням, можна одержати шляхом гідрування сполуки формули 21, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, з використанням придатного гідрувального агента у відповідних умовах.



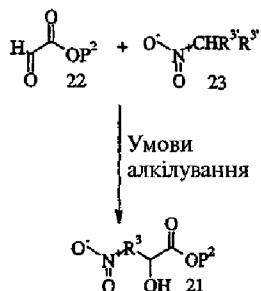
Конкретним гідрувальним агентом є H₂/Pd(OH)₂. Конкретні умови гідрування включають проведення реакції в спиртовому розчиннику, наприклад, в метанолі або в етанолі, або в алкан-алканоаті, наприклад, в етилацетаті, при температурі, близькій до кімнатної температури.

Сполуку формули 20, де R⁴ є факультативно заміщена аліфатична група, а інші змінні групи відповідають поданим вище визначенням, можна одержати шляхом алкілювання сполуки формули 20', де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, із використанням сполуки формули 22 (алкілювального агента), де R⁴ є факультативно заміщена аліфатична група згідно з поданим вище визначенням, а Q є заміщувана група, наприклад, галоїд, тозилат або сульфонат, у відповідних умовах.

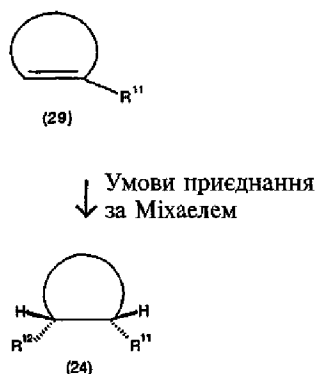


До придатних алкілювальних агентів належать галоїдні аліфатичні сполуки, аліфатичні тозилати або

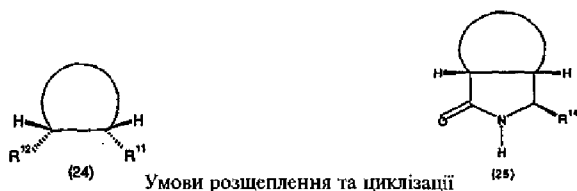
Сполуку формули 21, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, можна одержати шляхом алкілювання сполуки формули 22, де змінна група відповідає поданим вище визначенням, з використанням сполуки формули 23, де кожна із груп R^3 незалежно від іншої є факультативно заміщена аліфатична група, є факультативно заміщена циклічна група або є факультативно заміщена ароматична група згідно з поданими вище визначеннями, у відповідних умовах.



Сполучку формули 24, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, можна одержати шляхом приєднання за Міхаелем імінної похідної гліциніміду до акцептора за Міхаелем формули 29, де змінна група відповідає поданому вище визначенню.



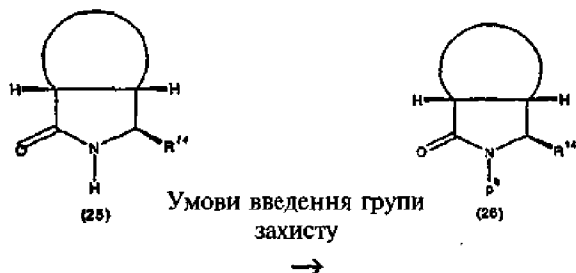
Сполуку формули 25, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, можна одержати шляхом розщеплення іміну та циклізації сполуки формули 24.



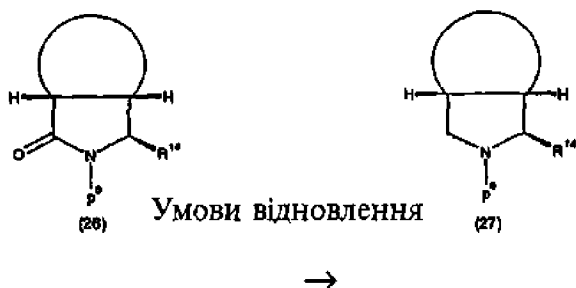
Методики розщеплення та циклізації описані в [публікаціях Жавідана та інших (A. Javidan, K. Schfer, S. Pyne, Synlett 100, 1996) і Тацукава та інших (A. Tatsukawa, M. Dan, M. Ohbatake et al., J. Org. Chem. 58, 4221, 1993)]. Умови розщеплення та циклізації включають застосування полярних розчинників, кислотних реагентів і температуру від кімнатної температури до приблизно 150°C. Перевага віддається використанню етанолу, ацетату натрію і гідрохлориду гідроксиламіну при температурі кипіння використаного

розчинника.

Сполуку формули 26, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, можна одержати шляхом введення групи захисту амідів у сполуку формули 25, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, із використанням придатної групи захисту амідів, наприклад, БОС. До інших придатних груп захисту належать Cbz, $-\text{CO}_2$ -алкіл. Інші групи захисту амідів описані в вищезгаданій [монографії Гріні (T.W. Greene, P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Chemistry, Wiley, New York, 1991)]. Умови введення групи захисту включають використання апротонних полярних розчинників, органічних основ як каталізаторів і температур в межах від 0°C до 100°C . Перевага віддається використанню ацетонітрилу, диметиламінопіридину і температури, близької до кімнатної температури.

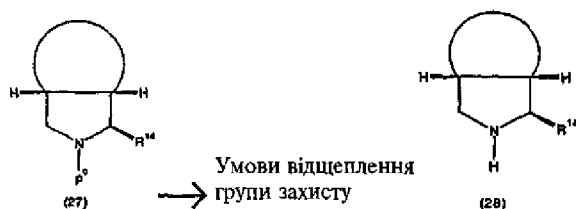


Сполуку формули 27, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, можна одержати шляхом відновлення сполуки формули 26, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням.



Фактично проводять дві реакції відновлення. Першою є відновлення амідів до геміаміналю з використанням гідриду діізобутилалюмінію або супергідриду (LiBEt_3H). Другою реакцією є відновлення геміаміналю до аміну з використанням триетилсилану та комплексу трифториду бору з діетиловим ефіром. Дивись [публікації Колладо та інших (I. Collado, J. Esquerra, A.I. Mateo, A. Rubio, J. Org. Chem. 63, 1995-2001 (1998)) та Ескуера та інших (J. Esquerra, C. Pedregal, B. Yruetaguena et al., J. Org. Chem. 60, 2925, 1995)]. Інші умови, які звичайно застосовують при перетворенні піроглутаматів у піролідини, включають використання комплексу гідриду бору з диметилсульфідом.

Сполуку формули 28, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням, можна одержати шляхом відщеплення групи захисту від сполуки формули 27, де змінні групи відповідають поданим вище визначенням.



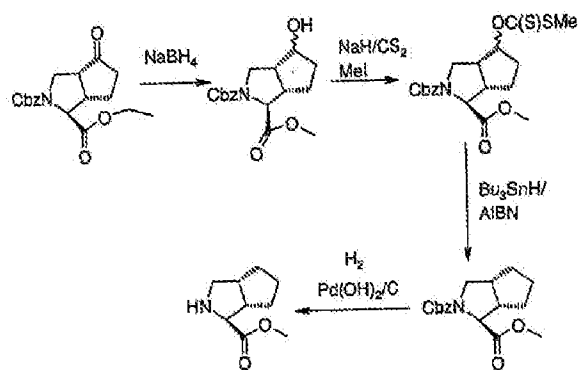
Умови селективного відщеплення захисної групи N-BOC у присутності трет-бутилового складного ефіру описано в [публікації Гібсона та інших (F.G. Gibson, S.C. Bermeier, H. Rapoport, J. Org. Chem. 59, 3216-3218, 1994)]. Обізнаному фахівцю відомо, що умови відщеплення групи захисту залежать від природи цієї групи. Наприклад, в разі застосування Cbz можна проводити відщеплення шляхом гідролізу або в основному середовищі. Якщо застосовано БОС, то перевага віддається використанню 1н. хлористоводневої кислоти в етилацетаті. Дивись також вищезгадану [монографію Гріні (T.W. Greene, P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Chemistry, Wiley, New York, 1991)].

Для обізнаного фахівця ясно, що сполуку формули 3 можна одержати шляхом сполучення сполуки формули 5 зі сполукою формули 28 в умовах, описаних вище.

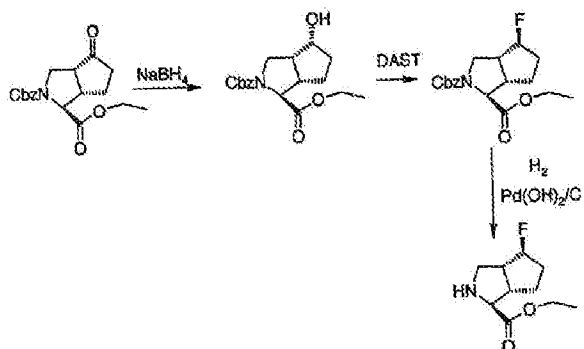
Способи одержання R^3 , R^5 та R^7 як факультативно заміщених етандіільних фрагментів включають відомі обізнаному фахівцю методи, наприклад, описані в [монографії "Органічна хімія β -лактамів" (The Organic Chemistry of β -Lactams, ed. by G. Georg, VCH Publ., Inc., 1993) на стор. 240-241 та 303-305].

Подані нижче Схеми 1-11 ілюструють різноманітні способи одержання факультативно заміщених поліциклічних азагетероциклів. Показані на схемах способи придатні також для одержання інших факультативно заміщених поліциклічних азагетероциклів, які включають сумісні аналогічні замісники.

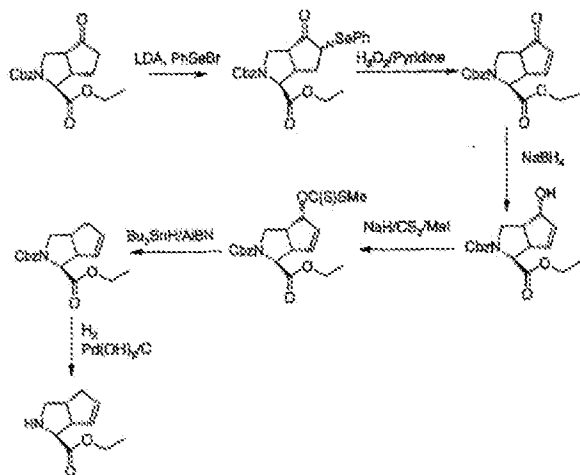
CXEMA 1



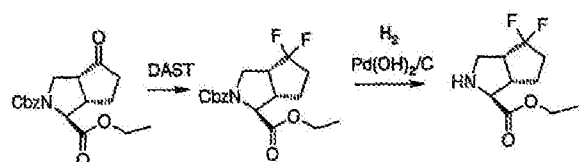
CXEMA 2



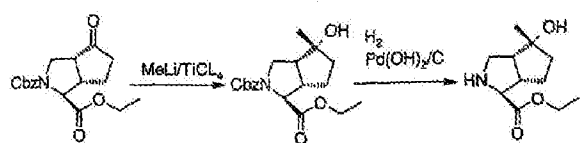
CXEMA 3



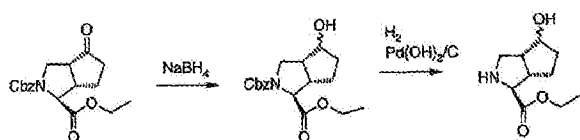
CXEMA 4



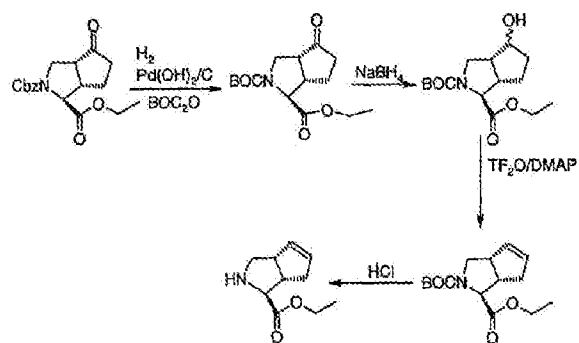
CXEMA 5



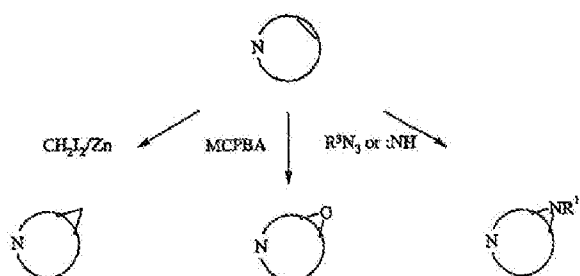
CXEMA 6



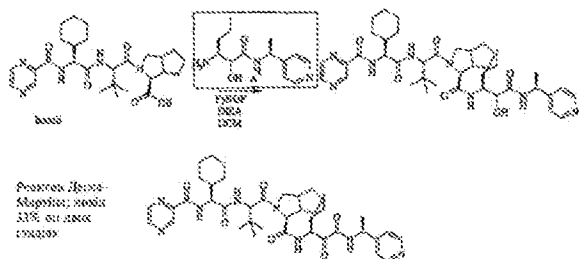
CXEMA 7



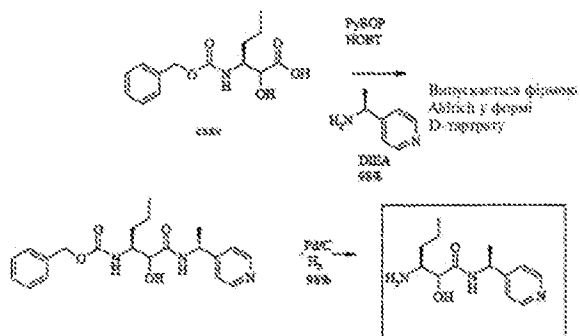
CXEMA 8

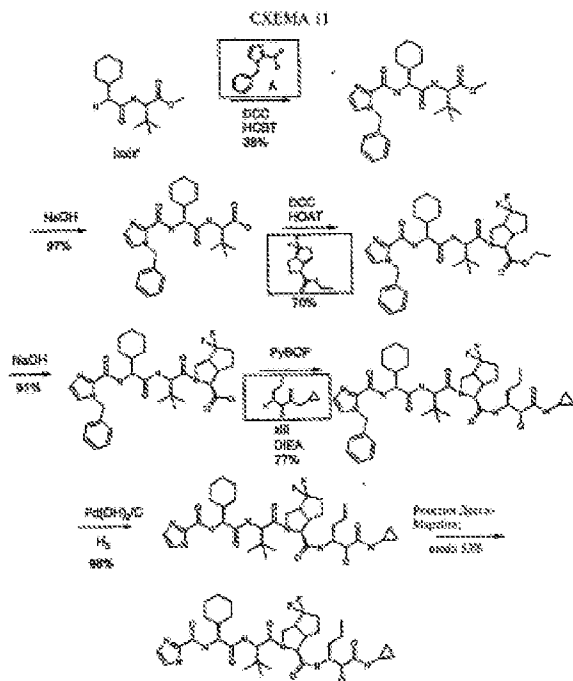


CXEMA 9



CXEMA 10





Сполуку формули 1, яка включає групу, що містить в циклах один або кілька атомів азоту, переважно імінних (=N-), можна перетворити у відповідну сполуку, де один або кілька атомів азоту в циклах окиснені до N-оксиду; перевага віддається використанню для цього реакції з надкислотою, наприклад, з надюватою кислотою в оцтовій кислоті або м-хлорнадоксобензойною кислотою в інертному розчиннику, наприклад, у хлористому метиліні, при температурі від кімнатної температури до температури кипіння, переважно при підвищеній температурі.

При проведенні реакцій, описаних нижче, може виявитися необхідним захист реакційноздатних функціональних груп, наприклад, гідроксилу, аміногрупи, іміногрупи, тіогрупи або карбоксилу, з метою запобігання їх небажаної участі в реакціях, якщо такі групи є бажаними в кінцевому продукті. Звичайні групи захисту можна застосовувати згідно зі стандартною практикою, дивись, наприклад, вищезгадану [монографію Гріні та Вутса (T. W. Greene, P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Chemistry*, John Wiley and Sons, 1991), а також монографію Макомі тієї ж назви (J.F.W. McOmie, *Protective Groups in Organic Chemistry*, Plenum Press, 1973)].

Сполуки, одержані згідно з поданими в цьому описі методиками, можна виділити з реакційної суміші відомими способами. Наприклад, сполуки можна виділити шляхом випаровування розчинника з реакційної суміші або, в разі необхідності, шляхом дистиляції розчинника з реакційної суміші, виливання залишку у воду з наступним застосуванням органічним розчинником, що не змішується з водою, та дистиляцією цього розчинника з екстракту. В разі потреби одержаний продукт можна додатково очищати різноманітними відомими способами, наприклад, перекристалізацією, переосадженням, або різноманітними хроматографічними способами, особливо хроматографуванням на колонці або препаративним хроматографуванням у тонкому шарі.

Згідно зі ще одною ознакою цього винаходу, сполуки, надані цим винаходом, можна одержати шляхом взаємоперетворення інших сполук, наданих цим винаходом.

Прикладом способу взаємоперетворення може бути одержання сполук формули 1, що містять сульфоксидні містчкові групи, шляхом окиснення відповідних сполук, що містять містчкові групи -S-. Таке окиснення зручно виконувати, наприклад, шляхом проведення реакції з надкислотою, наприклад, 3-хлорнадбензойною кислотою, переважно в інертному розчиннику, наприклад, у хлористому метиліні, при кімнатній температурі або близькій до неї, або, згідно з альтернативним способом, із використанням гідропероксомоносульфату калію у відповідному середовищі, наприклад, у водному розчині метанолу, рН якого доведено приблизно до 5 буферною сполукою, при температурі від 0°C до кімнатної температури. Останньому способу віддається перевага при використанні сполук, що містять кислотно-лабільну групу.

Іншим прикладом способу взаємоперетворення може бути одержання сполук формули 1, що містять сульфонові містчкові групи, шляхом окиснення відповідних сполук, що містять сульфідні (-S-) або сульфоксидні містчкові групи. Таке окиснення зручно виконувати, наприклад, шляхом проведення реакції з надкислотою, наприклад, 3-хлорнадбензойною кислотою, переважно в інертному розчиннику, наприклад, у хлористому метиліні, переважно при кімнатній температурі або близькій до неї.

Слід мати на увазі, що поняття ароматичності стосовно до арилів та гетероарилів у цьому описі охоплює будь-які ненасичені циклічні структури з високим ступенем резонансу. Альтернативно, зображене в формулах розташування подвійних зв'язків відповідає одній потенційній структурі представленої сполуки, проте мається на увазі, що воно охоплює інші резонансні стани цієї сполуки, а також протоновані та заряджені форми, з яких може бути показана тільки одна.

Слід мати на увазі, що сполуки, надані цим винаходом, можуть містити асиметричні центри. Кожен із цих асиметричних центрів незалежно від інших може мати або R-, або S-конфігурацію. Для обізнаного фахівця очевидно, що певні сполуки згідно з цим винаходом можуть мати також геометричну ізомерію. Мається на увазі, що цей винахід охоплює індивідуальні геометричні ізомери та стереоізомери сполук, наданих цим винаходом, а також їх суміші, в тому числі рацемічні суміші. Згадані ізомери можна виділити з їх сумішей шляхом застосування або адаптації відомих способів, наприклад, хроматографічних способів та

перекристалізації, або ж одержати окремо з відповідних ізомерів проміжних продуктів.

Для цілей цього винаходу мається на увазі, що позначення певних груп охоплює їх таутомерні форми; це стосується наприклад, тіоксо/меркаптогрупи або оксогрупи/гідроксилу.

Солі кислот утворюють сполуки, надані цим винаходом, в яких присутні основні функції, наприклад, аміногрупа, алкіламіногрупа або діалкіламіногрупа. Перевага віддається фармацевтично прийнятним, тобто не токсичним солям кислот. Добрані солі є оптимальними з точки зору сумісності зі звичайними фармацевтичними носіями і пристосовані для перорального або парентерального введення в організм. Солі сполук, наданих цим винаходом, з кислотами можна одержати шляхом реакції вільної основи з придатною кислотою з використанням або адаптуванням відомих способів. Наприклад, солі сполук, наданих цим винаходом, з кислотами можна одержати шляхом розчинення вільної основи у воді або у водно-спиртовому розчині, або в інших розчинниках, що містять придатну кислоту, і виділення солі шляхом випаровування розчинника; або шляхом проведення реакції вільної основи з кислотою в органічному розчиннику, в цьому разі сіль виділяється безпосередньо або може бути виділена шляхом концентрування розчину. До кислот, придатних для одержання таких солей, належать хлористоводнева кислота, бромистоводнева кислота, фосфорна кислота, сірчана кислота, різноманітні органічні карбонові кислоти та сульфокислоти, наприклад, оцтова кислота, лимонна кислота, пропіонова кислота, бурштинова кислота, бензойна кислота, винна кислота, фумарова кислота, мигдальна кислота, аскорбінова кислота, яблучна кислота, метансульфокислота, толуолсульфокислота, жирні кислоти; прикладами солей є адипінат, альгінат, аскорбат, аспартат, бензол сульфонат, бензоат, циклопентанпропіонат, диглюконат, додецилсульфат, бісульфат, бутират, лактат, лаурат, лаурилсульфат, малат, гідройодид, 2-гідроксіетансульфонат, гліцерофосфат, пікрат, півалат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенілпропіонат, тіоціанат, 2-нафталінсульфонат, ундеканат, нікотинат, гемісульфат, гептаноат, гексаноат, камфорат, камфорасульфонат та інші.

Сполуки, надані цим винаходом, можуть бути регенеровані з їхніх солей з кислотами шляхом застосування або адаптації відомих способів. Наприклад, вихідні сполуки, надані цим винаходом, можна регенерувати з їхніх солей з кислотами обробленням лугом, наприклад, водним розчином бікарбонату натрію або водним розчином аміаку.

Сполуки згідно з цим винаходом можуть бути регенеровані з їхніх солей з основами шляхом застосування або адаптації відомих способів. Наприклад, вихідні сполуки, надані цим винаходом, можна регенерувати з їхніх солей з основами обробленням кислотою, наприклад, хлористоводневою кислотою.

Солі з основами утворюють сполуки, надані цим винаходом, в яких присутні карбоксильні групи або біоізоестеричні групи достатньої кислотності. До основ, які можна використовувати для одержання згаданих солей з основами, належать переважно основи, які в сполученні зі згаданими вільними кислотами утворюють фармацевтично прийнятні солі, тобто такі, катіони яких не токсичні для пацієнта у фармацевтичних дозах солей, так що сприятливий інгібувальний ефект, властивий згаданим вільним основам, не послаблюється під впливом побічних ефектів, які можна приписати катіонам. До фармацевтично прийнятних солей, в тому числі солей - похідних лужних та лужноземельних металів, в межах цього винаходу належать солі, що утворюються з такими основами: гідррид натрію, гідроксид натрію, гідроксид калію, гідроксид кальцію, гідроксид алюмінію, гідроксид літію, гідроксид магнію, гідроксид цинку, аміак, етилендіамін, N-метилглюкамін, лізин, аргінін, орнітин, холін, N,N'-добензилетилендіамін, хлорпрокаїн, діетаноламін, прокаїн, N-бензилфенетиламін, діетиламін, піперазин, трис(гідроксиметил)-амінометан, гідроксид тетраметиламонію тощо.

Сполуки, надані цим винаходом, зручно одержувати або утворювати за способами згідно з винаходом у формі сольватів (наприклад, гідратів). Гідрати сполук згідно з цим винаходом зручно одержувати шляхом перекристалізації з суміші води з органічним розчинником, наприклад, з діоксаном, тетрагідрофураном або метанолом.

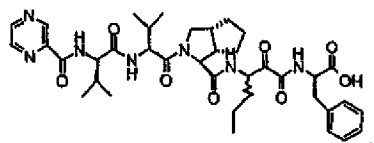
Вихідні матеріали та проміжні продукти можна одержати шляхом застосування або адаптації відомих способів, наприклад, способів, описаних в Прикладах порівняння, або їх очевидних хімічних еквівалентів.

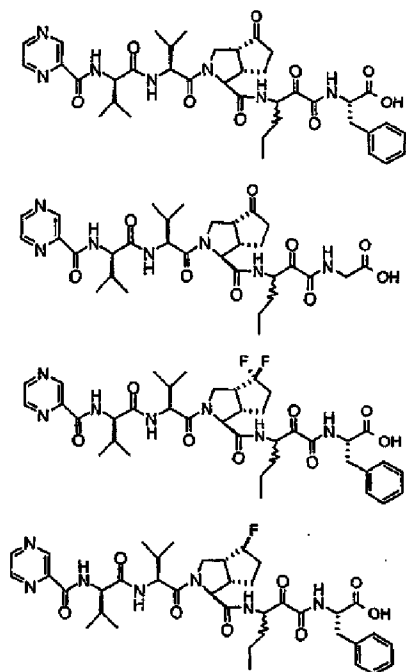
Характеристики сполук, наданих цим винаходом, способи їх одержання та їх біологічна дія стануть більш ясні при розгляді поданих нижче прикладів, які представлені лише з ілюстративною метою і не повинні розглядатися як такі, що обмежують обсяг винаходу.

Зразки аналізувалися методами хроматографії в тонкому шарі (ТШХ), ядерно-магнітного резонансу (ЯМР), рідинної хроматографії високої ефективності з оберненою фазою (РХВЕ-ОФ) та елементного аналізу (ЕА).

Приклад 1. Сполуки А-Е

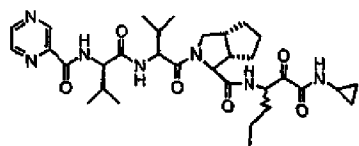
До розчину сполуки хі (310мг, 0,39ммоль) в хлористому метилені (10мл) додавали трифтороцтову кислоту (4мл). Реакційну суміш перемішували протягом 5год при приблизно кімнатній температурі. Потім видаляли розчинник у вакуумі. Одержаний залишок очищали РХВЕ з оберненою фазою. Одержано 195мг (68%) сполуки А



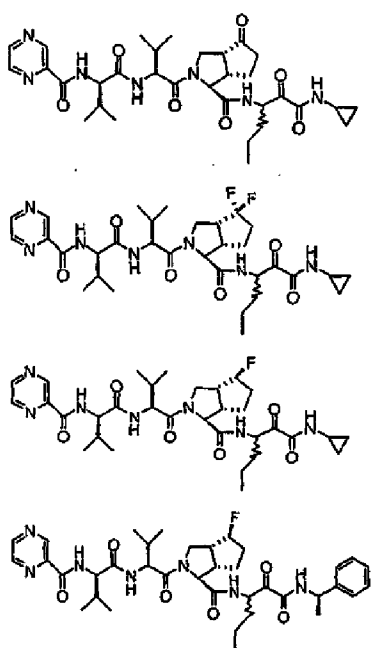


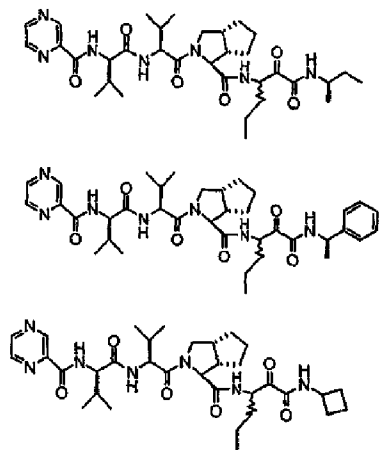
Приклад 2. Сполуки F-M

До розчину сполуки хіі (350мг, 0,56ммоль) в хлористому метилені (10мл) додавали йодний реактив Десса-Мартіна (307мг, 0,73ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 2год при приблизно кімнатній температурі, а потім гасили реакцію доданням 10%-ного розчину сульфіту натрію і витримували 30хв. Реакційну суміш екстрагували етилацетатом (75мл) і промивали розсолем. Сушили органічний шар і концентрували у вакуумі. Одержаний залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 80-90% етилацетату з гексаном). Одержано 248мг (71%) сполуки F



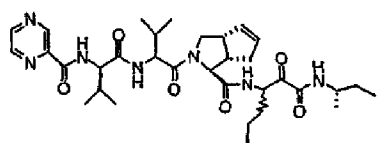
За описаною вище методикою з застосуванням придатних вихідних матеріалів одержано подані нижче сполуки G-M:



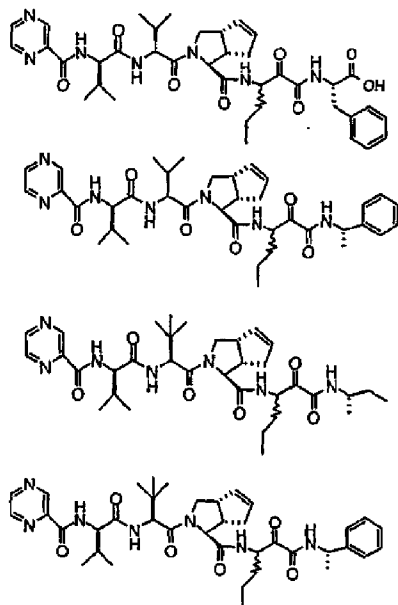


Приклад 3. Сполуки N-R

До розчину сполуки хіх (приблизно 0,22ммоль) в хлористому метилені (4мл) додавали йодний реактив Десса-Мартіна (146мг, 0,34ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 2год при приблизно кімнатній температурі, а потім гасили реакцію доданням 10%-ного розчину сульфату натрію. Реакційну суміш розбавляли хлористим метиленом. Органічний шар відділяли і промивали 10%-ним розчином сульфату натрію (двічі) і розсоллом. Сушили органічний шар і концентрували у вакуумі. Одержаний залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 5% етанолу в етилацетаті). Одержано 78мг (56%) цільової сполуки N

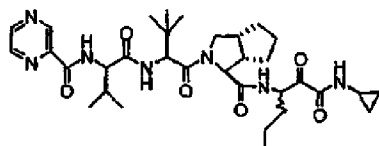


За описаною вище методикою з застосуванням придатних вихідних матеріалів одержано подані нижче сполуки Q-R:



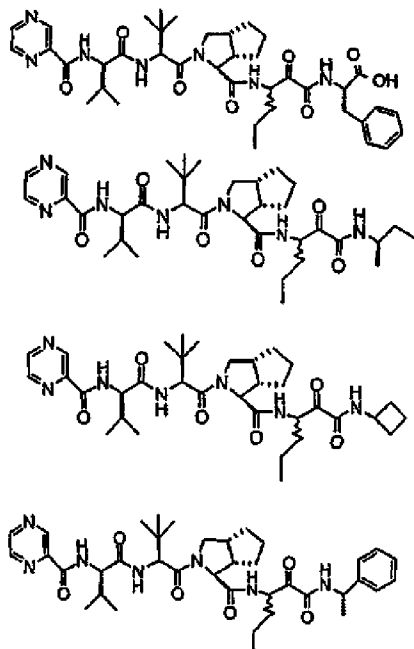
Приклад 4. Сполуки S-W

До розчину сполуки ххv (320мг, 0,5ммоль) в хлористому метилені (10мл) додавали йодний реактив Десса-Мартіна (272мг, 0,65ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 2год при приблизно кімнатній температурі, а потім гасили реакцію доданням 10%-ного розчину сульфату натрію і витримували 20хв. Реакційну суміш екстрагували етилацетатом. Органічний шар промивали розсоллом, сушили і концентрували у вакуумі. Одержаний залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 80% етилацетату з гексаном). Одержано 170мг (53%) сполуки S



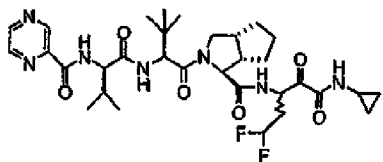
За описаною вище методикою з застосуванням придатних вихідних матеріалів одержано подані нижче

сполуки T-W:

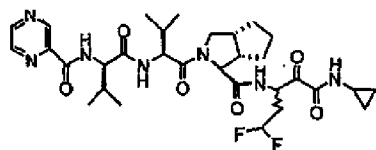


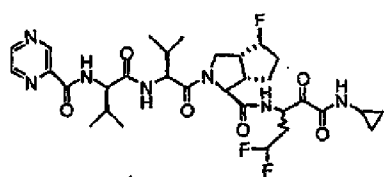
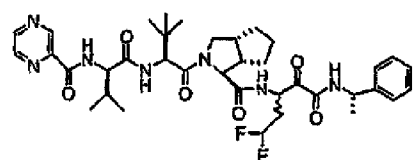
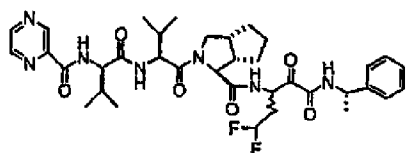
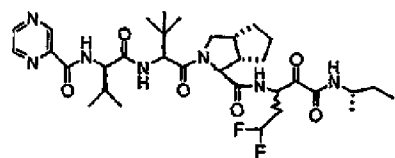
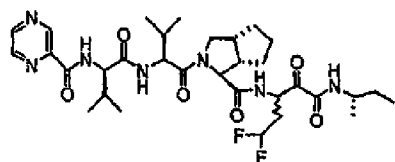
Приклад 5. Сполуки X-AD

До розчину сполуки xxvi (400мг, 0,6ммоль) в хлористому метилені (20мл) додавали йодний реактив Десса-Мартіна (329мг, 0,78ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 1,5год при приблизно кімнатній температурі, а потім гасили реакцію доданням 10%-ного розчину сульфату натрію і витримували 20хв. Реакційну суміш екстрагували етилацетатом. Органічний шар промивали розсолем, сушили і концентрували у вакуумі. Одержаний залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 70-100% етилацетату з гексаном). Одержано 210мг (53%) сполуки X



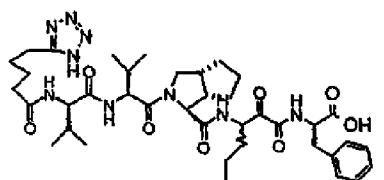
За описаною вище методикою з застосуванням придатних вихідних матеріалів одержано подані нижче сполуки Y-AD:



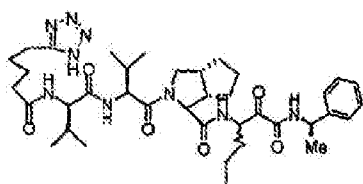
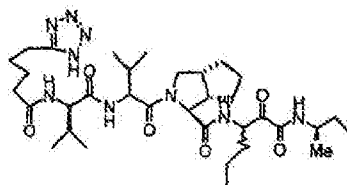
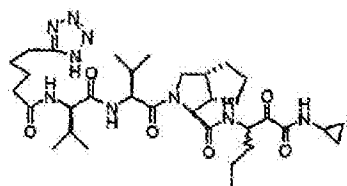
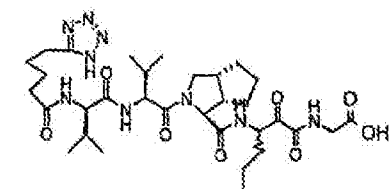


Приклад 6. Сполуки AE-AI

Сполуку xxxiii (150мг, 0,076ммоль) розчиняли в 5мл трифтороцтової кислоти і перемішували протягом двох діб. Продукт очищали РХВЕ зі зворотною фазою. Одержано 40мг (33%) сполуки AE

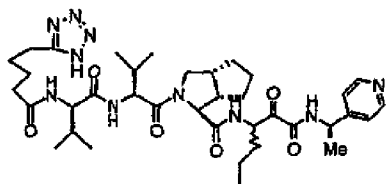


За описаною вище методикою з застосуванням придатних вихідних матеріалів одержано подані нижче сполуки AF-AI:



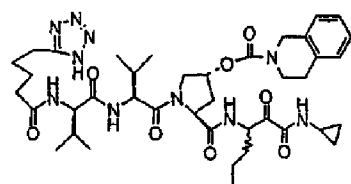
Приклад 7. Сполука AJ

Сполуку xxxviii (180мг, 0,21ммоль) розчиняли в нерозбавленій трифтороцтовій кислоті (5мл) і залишали на 3 доби при приблизно кімнатній температурі. Після цього реакційну суміш концентрували у вакуумі, одержуючи залишок, який очищали РХВЕ зі зворотною фазою. Одержано 50мг (32%) сполуки AJ

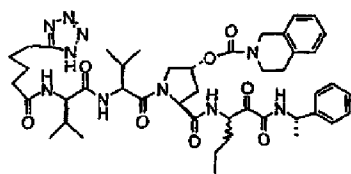
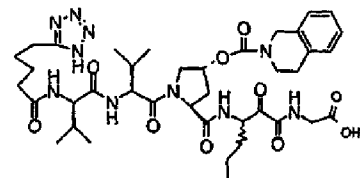


Приклад 8. Сполуки АК-АМ

Сполуку xxxiii (150мг, 0,16ммоль) розчиняли в 4,5мл трифтороцтової кислоти і перемішували протягом трьох діб. Продукт очищали РХВЕ зі зворотною фазою. Одержано 70мг (54%) сполуки АК

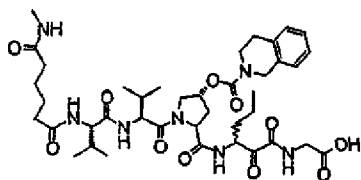


За описаною вище методикою з застосуванням придатних вихідних матеріалів одержано подані нижче сполуки AL-AM:



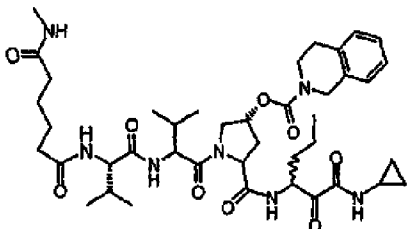
Приклад 9. Сполука AN

Сполуку ІІІ (80мг) розчиняли в 3мл трифтороцтової кислоти і 3мл хлористого метилену. Суміш перемішували протягом 5год при приблизно кімнатній температурі. Видаляли розчинник випаровуванням. Продукт очищали РХВЕ. Одержано 62мг (83%) сполуки АN



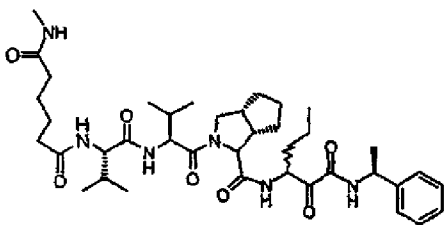
Приклад 10. Сполука АО

Сполуку ІІІІ (160мг, 0,2ммоль) розчиняли в 5мл хлористого метилену і додавали йодний реактив Десса-Мартіна (170мг, 0,4ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 3год при приблизно кімнатній температурі. Видаляли розчинник випаровуванням, одержаний залишок розчиняли в суміші ацетонітрилу (50%) з водою і очищали РХВЕ-ОФ. Одержано 51мг (32%) сполуки АО



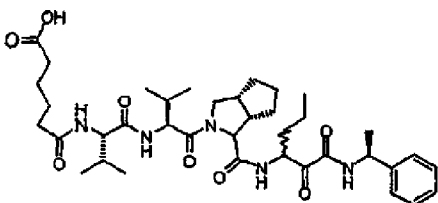
Приклад 11. Сполука АР

Сполуку ІХ (162мг, 0,22ммоль) розчиняли в 8мл хлористого метилену і додавали йодний реактив Десса-Мартіна (189мг, 0,44ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 3год при приблизно кімнатній температурі. Видаляли розчинник випаровуванням і очищали продукт РХВЕ-ОФ. Одержано 41мг (25%) сполуки АР



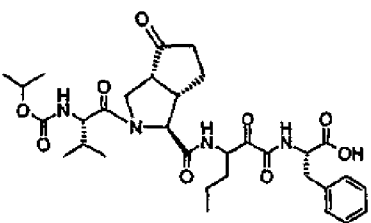
Приклад 12. Сполука АО

Сполуку ІХ (70мг, 0,09ммоль) розчиняли в 5мл трифтороцтової кислоти і 5мл хлористого метилену. Суміш перемішували протягом 3год при приблизно кімнатній температурі. Видаляли розчинник у вакуумі, одержаний залишок розчиняли в суміші ацетонітрилу (50%) з водою і ліофілізували. Одержано сполуку АQ в формі порошку.



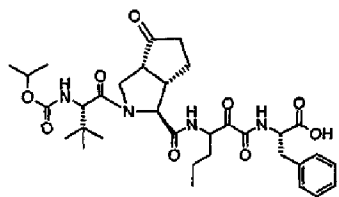
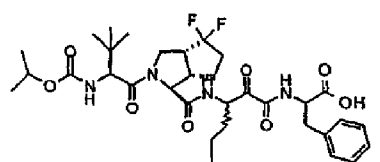
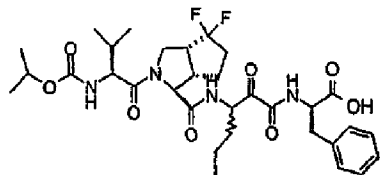
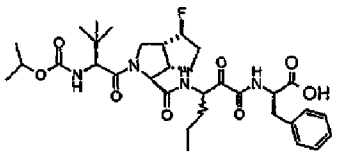
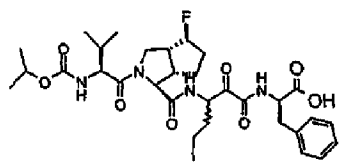
Приклад 13. Сполуки АR-BG

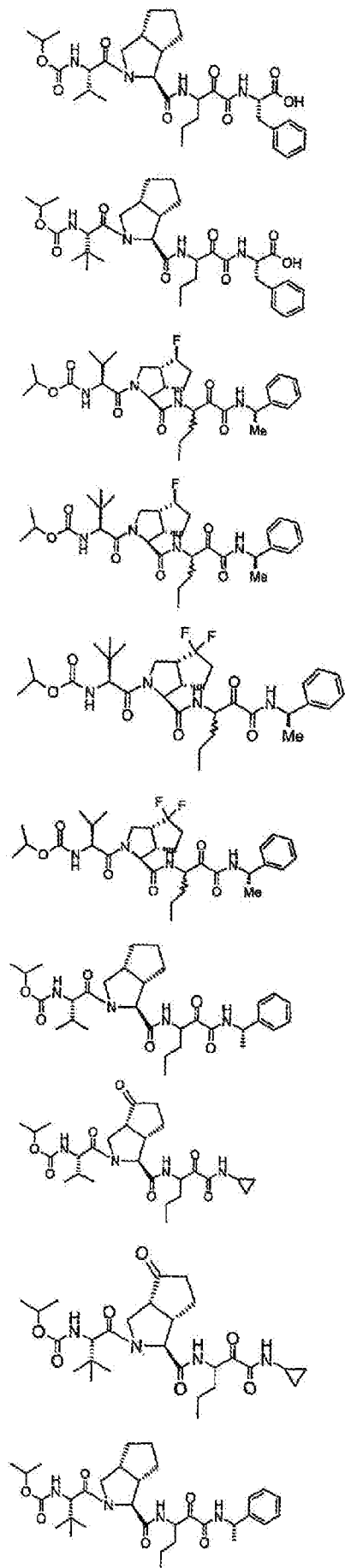
Розчин сполуки ІХVІ (223мг, 0,326ммоль) в трифтороцтовій кислоті (5мл) і хлористому метилені (5мл) перемішували протягом 4год. Хроматографія в тонкому шарі (силікагель, елюент 2% метанолу в етилацетаті) посвідчила повне перетворення у продукт із меншою швидкістю елюювання. Розчинник видаляли під зниженим тиском і продукт ліофілізували. Одержано 198мг (97%) сполуки АR



За описаною вище методикою з застосуванням придатних вихідних матеріалів одержано подані нижче

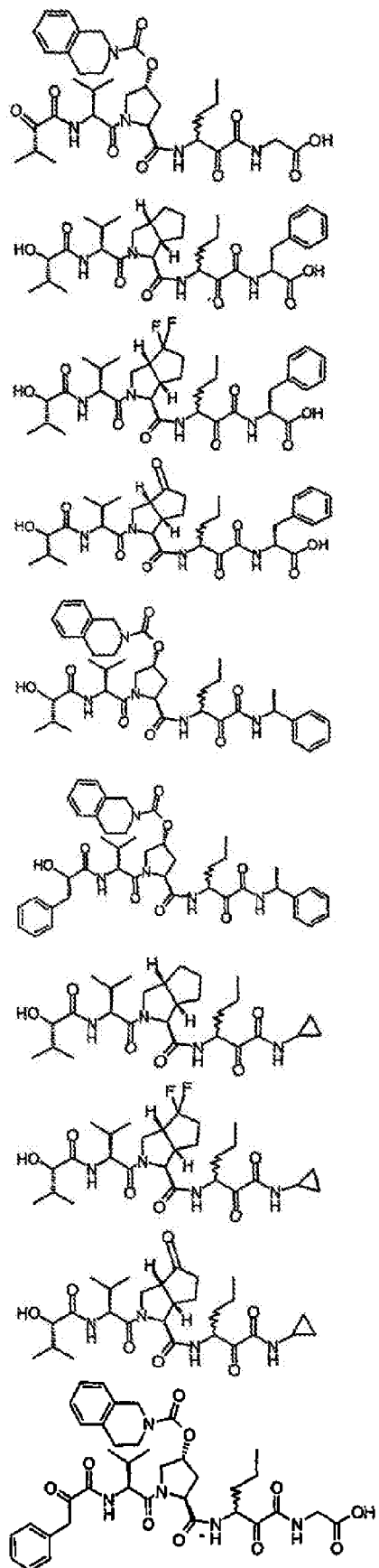
сполуки AS-BG:



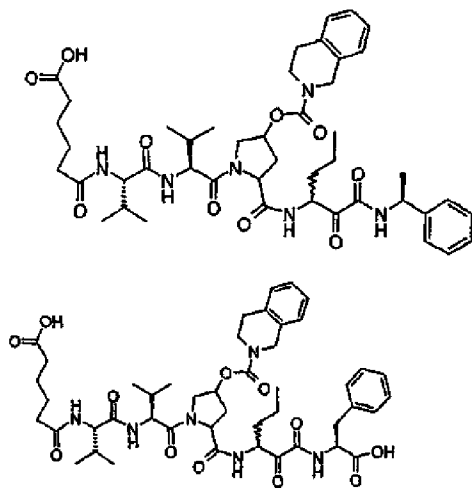


Приклад 14. Сполуки BH-BS

Сполуку Іххiii (150мг, 0,15ммоль) розчиняли в хлористому метилені (3мл). Додавали до цього розчину трифтороцтову кислоту (1,5мл). Одержану суміш перемішували протягом ночі. Потім концентрували суміш у вакуумі, залишок очищали РХВЕ з оберненою фазою і ліюфілізували. Одержано 60мг (50%) сполуки BH

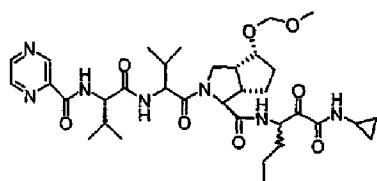


Приклад 15. Сполуки BT-BU
 За методикою Прикладу 12 із застосуванням придатних вихідних матеріалів одержано подані нижче
 сполуки BT-BU:



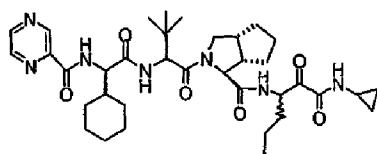
Приклад 16. Сполука BV

До розчину сполуки Ixxvii (143мг, 0,21ммоль) в хлористому метилені (4,2мл) додавали йодний реактив Десса-Мартіна (165мг, 0,39ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 2год при приблизно кімнатній температурі, а потім гасили реакцію доданням 10%-ного розчину сульфату натрію і витримували 20хв. Реакційну суміш екстрагували етилацетатом. Органічний шар промивали розсоллом, сушили над сульфатом магнію і концентрували, одержуючи масло жовтого кольору. Після очищення хроматографією на силікагелі (елюент 5% етанолу в етилацетаті) одержано 124мг (79%) сполуки BV

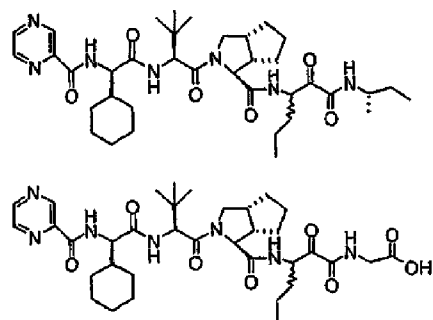


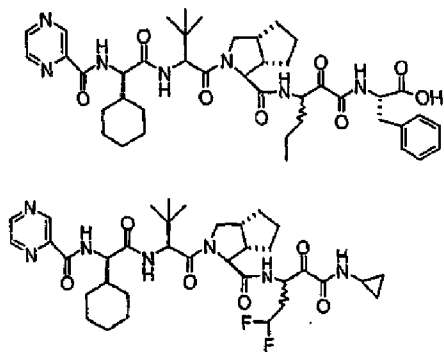
Приклад 17. Сполуки BW-CA

До розчину сполуки Ixxix (420мг, 0,62ммоль) в хлористому метилені (20мл) додавали йодний реактив Десса-Мартіна (342мг, 0,81ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 1год при приблизно кімнатній температурі, а потім гасили реакцію доданням 10%-ного розчину сульфату натрію і витримували 20хв. Реакційну суміш екстрагували етилацетатом. Органічний шар промивали розсоллом, сушили над сульфатом магнію і концентрували у вакуумі. Залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 80% етилацетату з гексаном). Одержано 208мг (50%) сполуки BW



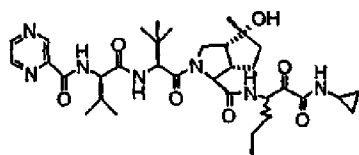
За описаною вище методикою з застосуванням придатних вихідних матеріалів одержано подані нижче сполуки BX-CA:



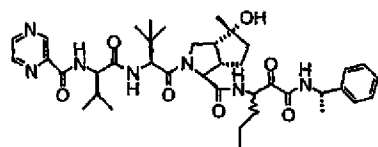


Приклад 18. Сполуки СВ-СС

До розчину сполуки Ixxxvii (200мг, 0,3ммоль) в хлористому метилені (6,5мл) додавали йодний реактив Десса-Мартіна (227мг, 0,54ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 2год при приблизно кімнатній температурі, а потім гасили реакцію доданням 10%-ного розчину сульфату натрію і витримували 20хв. Реакційну суміш екстрагували етилацетатом. Органічний шар промивали розсолем, сушили над сульфатом магнію і концентрували, одержуючи масло жовтого кольору. Після очищення хроматографією на силікагелі (елюент 5% етанолу в етилацетаті) одержано 138мг (70%) сполуки СВ

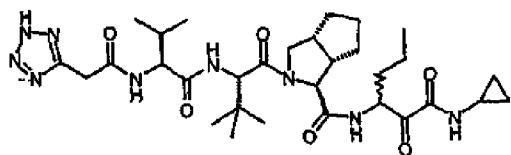


За описаною вище методикою з застосуванням придатних вихідних матеріалів одержано подану нижче сполуку СС:



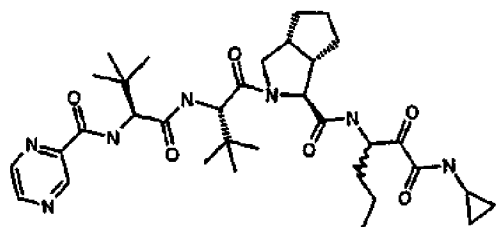
Приклад 19. Сполука CD

Сполуку Ixxxviii (40мг, 0,05ммоль) розчиняли в трихлороцтовій кислоті (3мл). Розчин перемішували протягом двох ночей і концентрували. Залишок очищали РХВЕ з оберненою фазою. Одержано 25мг (74%) сполуки CD



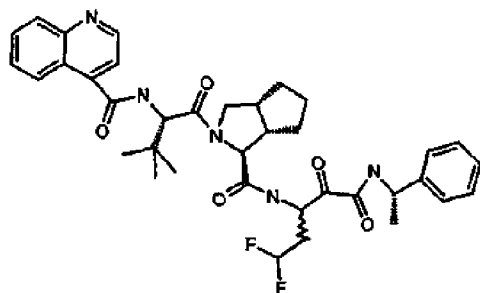
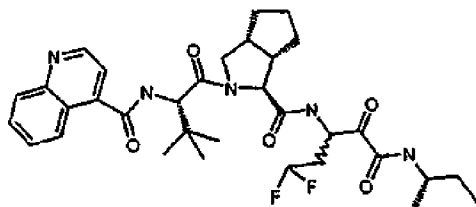
Приклад 20. Сполука CE

За методикою Прикладу 17 із використанням придатних вихідних матеріалів одержано сполуку CE:



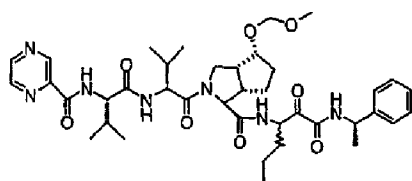
Приклад 21. Сполуки CF-CG

За методикою Прикладу 14 із використанням придатних вихідних матеріалів одержано сполуки CF-CG:



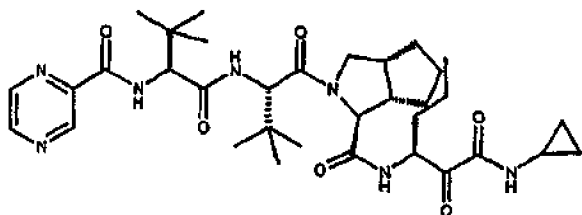
Приклад 22. Сполука СН

За методикою Прикладу 16 із використанням придатних вихідних матеріалів одержано сполуку СН:

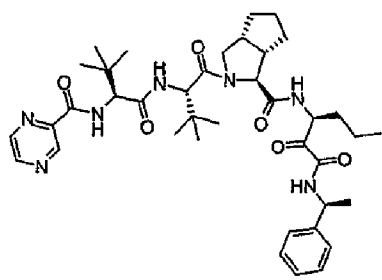


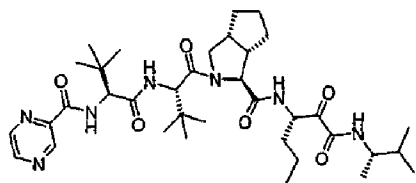
Приклад 23. Сполуки СІ-СМ

Сполуку схі (490мг, 0,75ммоль) розчиняли в хлористому метилені (6мл). Додавали до розчину йодний реактив Десса-Мартіна (380мг, 0,9ммоль) і перемішували протягом 1год. Гасили реакцію доданням 10%-ного розчину сульфату натрію, органічний шар промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Після концентрування органічної фази одержаний залишок очищали хроматографією (елюент 70% етилацетату з гексаном). Одержано сполуку СІ (325мг, 66,4%)

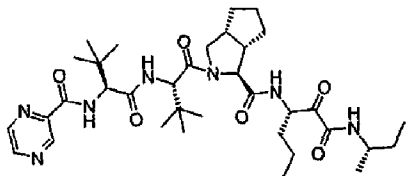


За поданою вище методикою одержання вищевказаної сполуки та способами одержання відповідних проміжних продуктів, із використанням придатних вихідних матеріалів одержано подані нижче сполуки СІ-СМ:

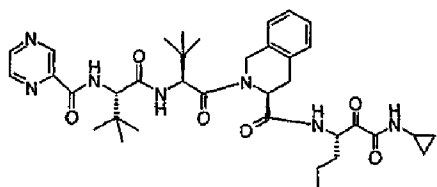




;

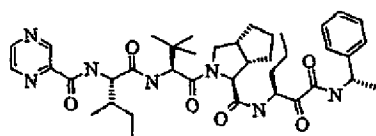


; та



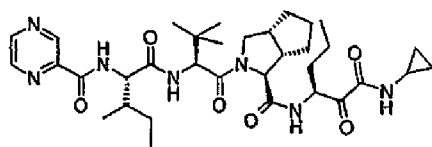
Приклад 24. Сполука CN

До розчину сполуки схviii (335мг, 0,46ммоль) в суміші хлористого метилену з тетрагідрофураном (3мл/3мл) додавали йодний реактив Десса-Мартіна (300мг, 0,69ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 2год при кімнатній температурі, а потім гасили реакцію доданням 10%-ного розчину сульфату натрію і витримували 20хв. Реакційну суміш екстрагували етилацетатом. Органічний шар промивали розсолон, сушили над сульфатом магнію і концентрували, одержуючи масло жовтого кольору. Після очищення хроматографією на силікагелі (елюент 80% етилацетату з гексаном) одержано сполуку CN (220мг, 67%)

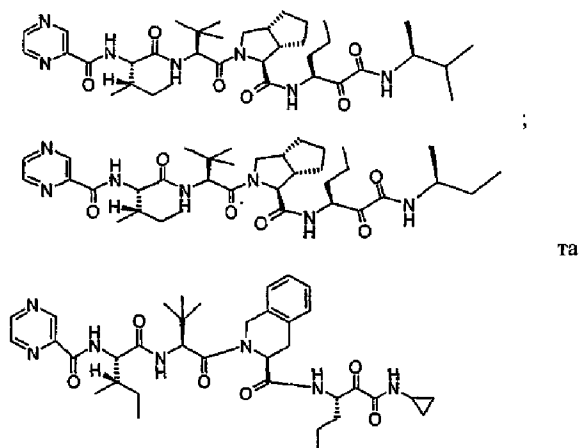


Приклад 25. Сполуки CO-CR

До розчину сполуки схіх (164мг, 0,25ммоль) в суміші хлористого метилену з тетрагідрофураном (1,5мл/1,5мл) додавали йодний реактив Десса-Мартіна (159мг, 0,38ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 2год при кімнатній температурі, а потім гасили реакцію доданням 10%-ного розчину сульфату натрію і витримували 20хв. Реакційну суміш екстрагували етилацетатом. Органічний шар промивали розсолон, сушили над сульфатом магнію і концентрували, одержуючи масло жовтого кольору. Після очищення хроматографією на силікагелі (елюент 70% етилацетату з гексаном) одержано сполуку CO (100мг, 61%)

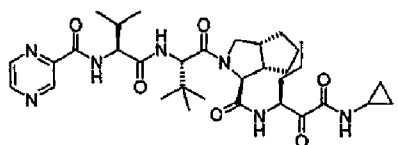


За поданою вище методикою одержання вищевказаної сполуки та способами одержання відповідних проміжних продуктів, із використанням придатних вихідних матеріалів одержано подані нижче сполуки CP-CR:

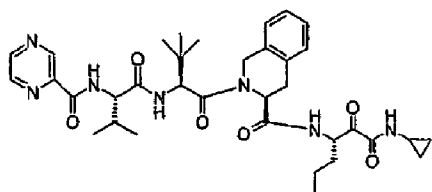


Приклад 26. Сполуки CS-CT

Сполуку схх (220мг, 0,34ммоль) розчиняли в хлористому метилени (3мл). До розчину додавали йодний реактив Десса-Мартіна (180мг, 0,41ммоль) і перемішували протягом 1год. Реакційну суміш гасили доданням 10%-ного розчину сульфату натрію, потім органічний шар промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і розсоллом. Після концентрування органічної фази залишок очищали хроматографією (елюент 100% етилацетату). Одержано сполуку CS (95мг, 43,7%)

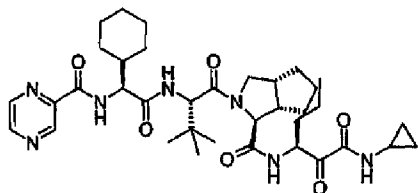


За поданою вище методикою одержання вищевказаної сполуки та способами одержання відповідних проміжних продуктів, із використанням придатних вихідних матеріалів одержано подану нижче сполуку CT:

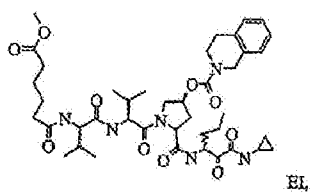


Приклад 27. Сполуки CU. EI. EK-EM, EO-EZ та FA-FH

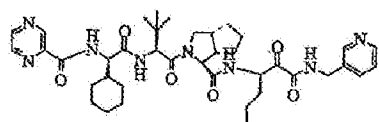
Сполуку сххviii (356мг, 0,52ммоль) розчиняли в хлористому метилени (5мл). До розчину додавали йодний реактив Десса-Мартіна (270мг, 0,63ммоль) і перемішували протягом 1год. Реакційну суміш гасили доданням 10%-ного розчину сульфату натрію, потім органічний шар відділяли і промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і розсоллом. Після концентрування органічного розчинника залишок очищали хроматографією (елюент 100% етилацетату). Одержано сполуку CU (200мг, 56,3%), т.пл. 225-235°C.



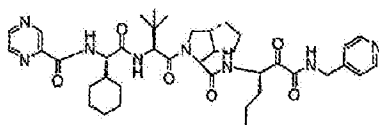
За поданою вище методикою одержання вищевказаної сполуки та способами одержання відповідних проміжних продуктів, із використанням придатних вихідних матеріалів одержано подані нижче сполуки EI, EK-EM, EO-EZ та FA-FH:



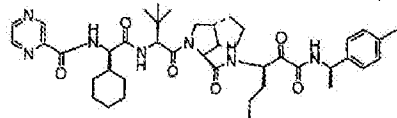
EL,



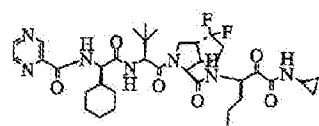
EK,



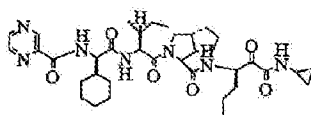
EL,



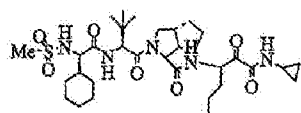
EM,



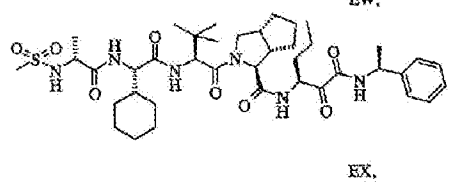
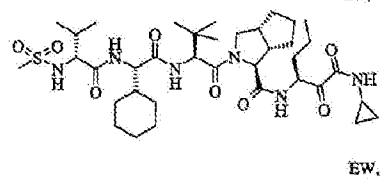
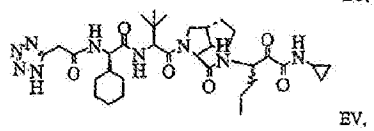
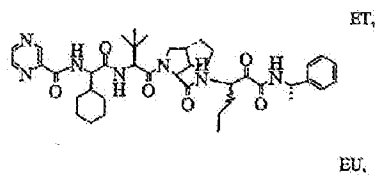
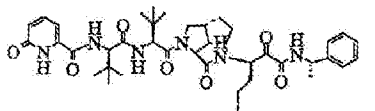
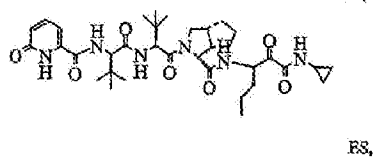
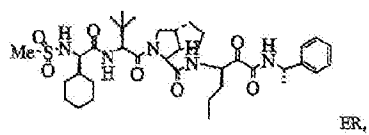
EO,

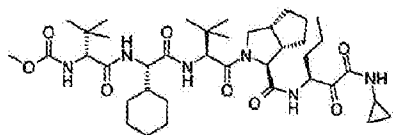


EP,

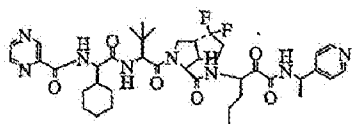


EQ,

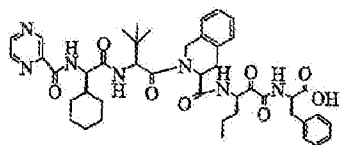




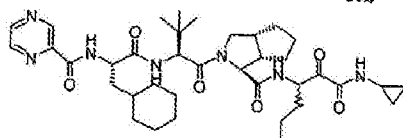
EY,



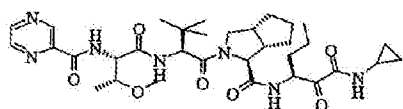
EZ,



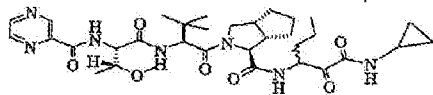
FA,



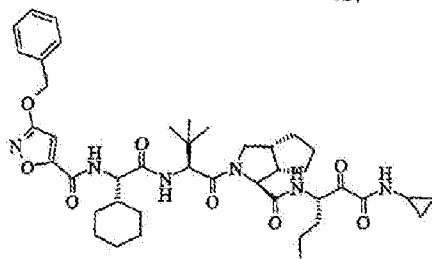
FB,



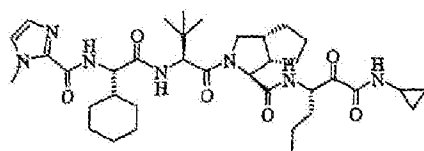
FC,



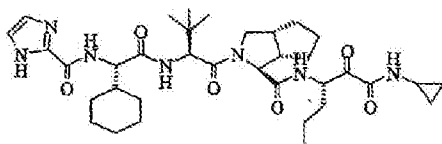
FD,



FE,

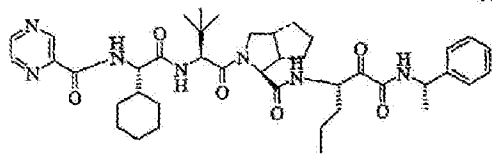


FF,



FG,

ra



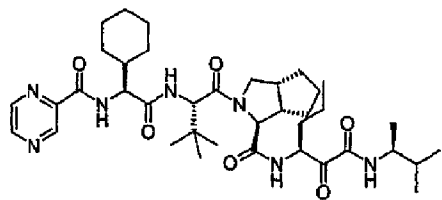
FH

Приклад 28. Сполуки СУ-DC

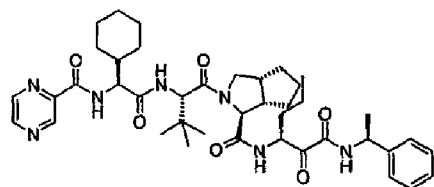
Сполуку sxxx (330мг, 0,46ммоль) розчиняли в хлористому метилені (5мл). До розчину додавали йодний реактив Десса-Мартіна (240мг, 0,56ммоль) і перемішували протягом 1год. Реакційну суміш гасили доданням 10%-ного розчину сульфату натрію, потім органічну фазу промивали насиченим розчином

бікарбонату натрію і розсолон.

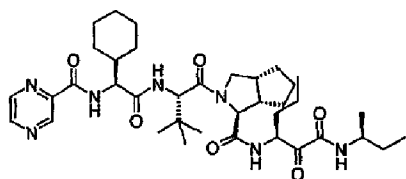
Після концентрування органічної фази залишок очищали хроматографією (елюент 100% етилацетату). Одержано сполуку CV (280мг, 85,9%).



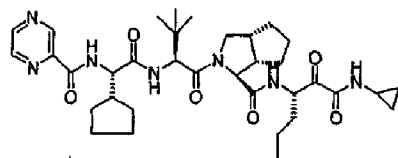
За поданою вище методикою одержання вищевказаної сполуки та способами одержання відповідних проміжних продуктів, із використанням придатних вихідних матеріалів одержано подані нижче сполуки CW-DC:



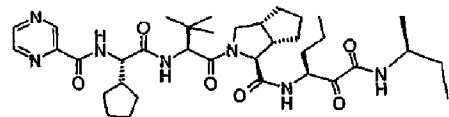
;



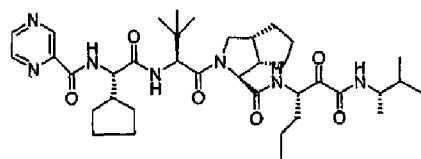
;



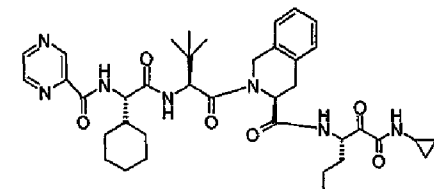
;



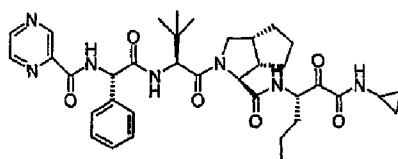
;



;

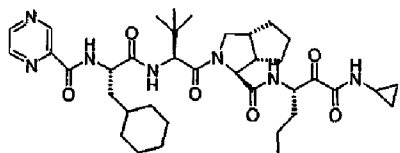


та

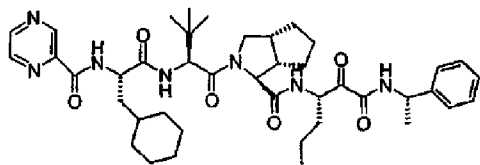


Приклад 29. Сполуки DD-DE

До розчину сполуки sxxxviii (400мг, 0,57ммоль) в хлористому метилені (6мл) додавали йодний реактив Десса-Мартіна (362мг, 0,85ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 2год при кімнатній температурі, а потім гасили реакцію додаванням 10%-ного розчину сульфату натрію і витримували 20хв. Реакційну суміш екстрагували етилацетатом. Органічний шар промивали розсолон, сушили над сульфатом магнію і концентрували, одержуючи масло жовтого кольору. Після очищення хроматографією на силікагелі (елюент 70% етилацетату в гексані) одержано сполуку DD (201мг, 51%)

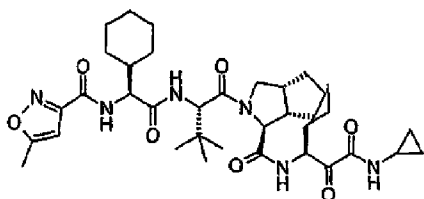


За поданою вище методикою одержання вищевказаної сполуки та способами одержання відповідних проміжних продуктів, із використанням придатних вихідних матеріалів одержано подану нижче сполуку DE:



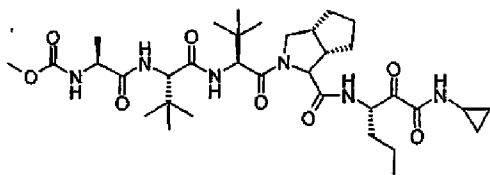
Приклад 30. Сполука DF

Сполуку sxxxxiii (165мг, 0,24ммоль) розчиняли в хлористому метилені (5мл). До розчину додавали йодний реактив Десса-Мартіна (125мг, 0,29ммоль) і перемішували протягом 1год. Реакційну суміш гасили доданням 10%-ного розчину сульфату натрію, органічний шар відділяли і промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і розсоллом. Після концентрування органічної фази залишок очищали хроматографією (елюент 70% етилацетату з гексаном). Одержано сполуку DF (108мг, 65,6%)

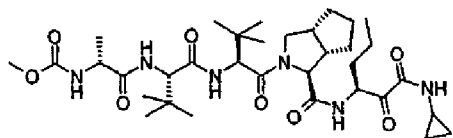


Приклад 31. Сполуки DG-DJ

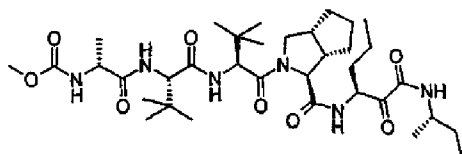
До розчину сполуки сії (0,350г, 0,516ммоль) в хлористому метилені (15мл), охолодженого в бані з льодом, додавали йодний реактив Десса-Мартіна (0,281г, 0,671ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 2год при кімнатній температурі, а потім гасили реакцію доданням 10%-ного розчину сульфату натрію і перемішували 20хв. Реакційну суміш екстрагували хлористим метиленом (тричі по 20мл), і органічний екстракт сушили над сульфатом магнію. Після фільтрування для видалення сульфату магнію фільтрат концентрували і очищали хроматографією на колонці (елюент 70% етилацетату в гексані). Одержано кінцеву сполуку DG (0,265г, 76%) у вигляді білої твердої речовини.



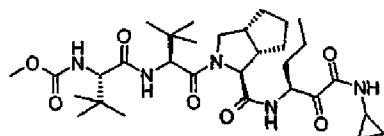
За поданою вище методикою одержання вищевказаної сполуки та способами одержання відповідних проміжних продуктів, із використанням придатних вихідних матеріалів одержано подані нижче сполуки DH-DJ:



;

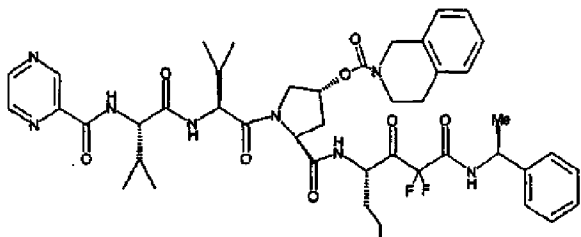


та

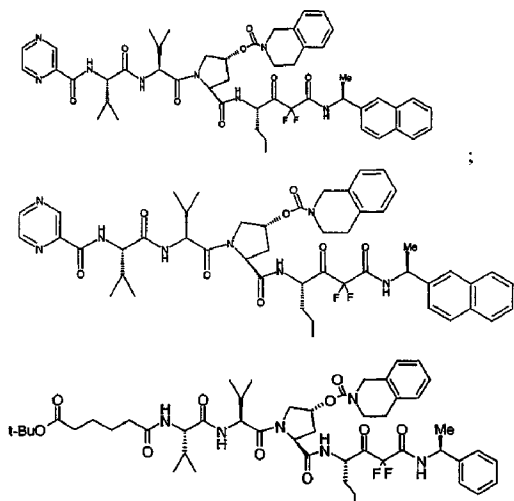


Приклад 32. Сполуки DK-DN

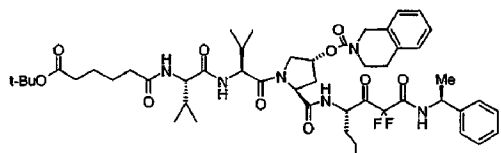
До розчину сполуки сіх (108мг, 0,123ммоль) в хлористому метилені додавали йодний реактив Десса-Мартіна (78мг, 0,185ммоль). Після перемішування протягом 1год реакційну суміш розбавляли етилацетатом (50мл), а потім гасили реакцію доданням 10%-ного розчину сульфату натрію. Після перемішування протягом 30хв органічну фазу відділяли і промивали розчином бікарбонату натрію і розсол. Органічну фазу сушили і концентрували у вакуумі, одержуючи залишок, який очищали хроматографією на силікагелі (елюент 80% етилацетату в гексані). Одержано сполуку DK (84мг, 78%).



За поданою вище методикою одержання вищевказаної сполуки та способами одержання відповідних проміжних продуктів, із використанням придатних вихідних матеріалів одержано подані нижче сполуки DL-DN:

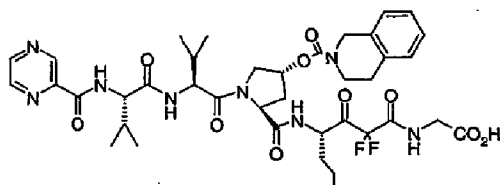


та

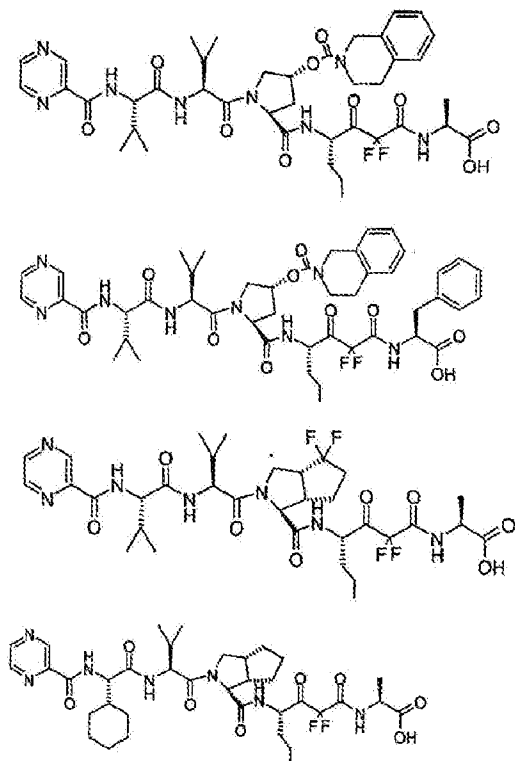


Приклад 33. Сполуки DO-DS

Сполуку сіхії (174мг, 0,189ммоль), розчинену в етанолі (10мл), піддавали гідруванню з застосуванням паладію на вугіллі (30% екв., 60мг, вміст паладію 10%) протягом 2,5год. Відділяли каталізатор фільтруванням. Одержаний фільтрат концентрували у вакуумі, одержуючи залишок, який очищали напівпрепаративною хроматографією з оберненою фазою і ліофілізували. Одержано сполуку DO з виходом 70%.



За поданою вище методикою одержання вищевказаної сполуки та способами одержання відповідних проміжних продуктів, із використанням придатних вихідних матеріалів одержано подані нижче сполуки DP-DS:



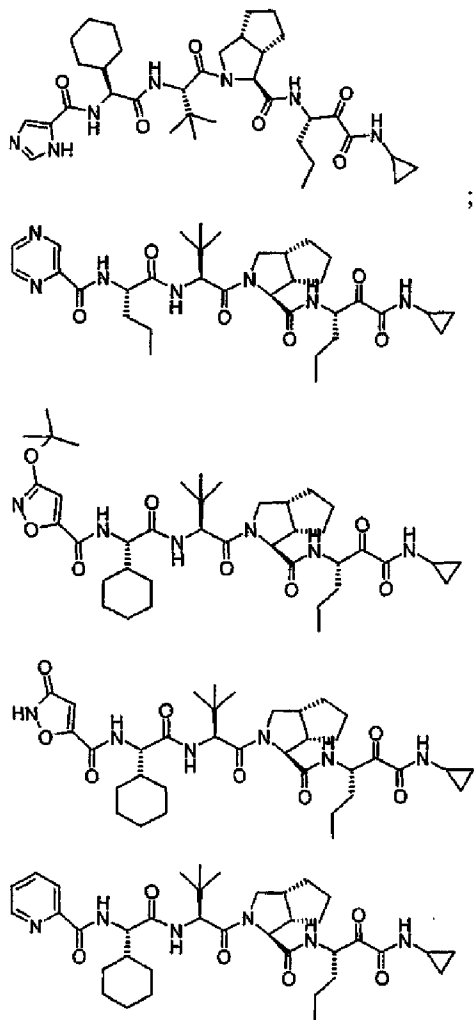
Приклад 34. Сполука CW

Сполуку сіхії (175мг, 0,24ммоль) розчиняли в хлористому метилені (3мл). До розчину додавали йодний реактив Десса-Мартіна (120мг, 0,28ммоль) і перемішували протягом 1год. Реакційну суміш гасили доданням 10%-ного розчину сульфату натрію і промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Після очищення з використанням 70% етилацетату одержано сполуку CW (134мг, 75%).

Приклад 35. Сполуки CY і DT-DX

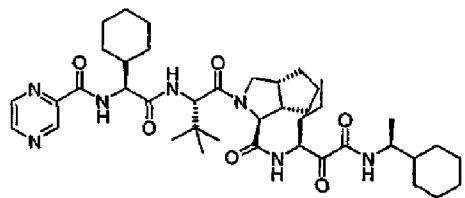
До розчину сполуки сіхії (290мг, 0,43ммоль) в хлористому метилені (15мл) додавали йодний реактив Десса-Мартіна (239мг, 0,56ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 1год при кімнатній температурі, а потім гасили реакцію доданням 10%-ного розчину сульфату натрію і витримували 20хв. Реакційну суміш екстрагували етилацетатом. Органічний шар промивали розсолем, сушили і концентрували у вакуумі. Залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 8-100% етилацетату в гексані). Одержано сполуку CY (151мг, 52%)

За поданою вище методикою одержання вищевказаної сполуки та способами одержання відповідних проміжних продуктів, із використанням придатних вихідних матеріалів одержано подані нижче сполуки DT-DX:



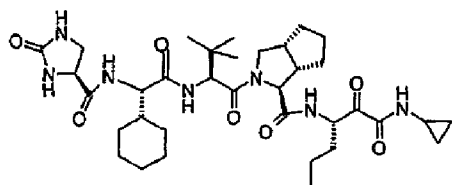
Приклад 36. Сполука DY

Сполуку IXxxv (1,17ммоль) розчиняли в хлористому метилени (5мл). До розчину додавали йодний реактив Десса-Мартіна (545мг, 1,3ммоль) і перемішували протягом 1 год. Реакційну суміш гасили доданням сульфату натрію, прищепленого до полімеру (1,5ммоль/г смоли) і перемішували суміш протягом 1год. Додавали смолу із прищепленою до полімеру очисною присадкою 1,5,7-триазабіцикло-[4.4.0]-дец-5-еном (2,5ммоль/г смоли) [описану в публікації Парлоу та інших - J. Parlow et al., Tetrahedron. 55, 6785-6796, 1999]. Одержану суміш фільтрували і очищали, застосовуючи 50% етилацетат. Одержано сполуку DY (440мг, вихід по двох стадіях 50,2%).



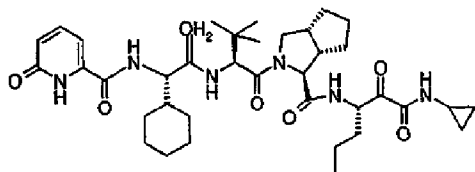
Приклад 37. Сполука DZ

Вихідний матеріал - сполуку сіххххі (94мг, 0,14ммоль) розчиняли в суміші тетрагідрофурану (10мл) і хлористого метилену (20мл). Потім додавали йодний реактив Десса-Мартіна (118мг, 0,28ммоль). Після перемішування протягом 2год при кімнатній температурі реакційну суміш переливали в ділільну лійку, куди перед тим завантажували 120мл безводного тетрагідрофурану (сорту Dri Solv THF). Промивали суміш 10%-ним розчином сульфату натрію (50мл), а потім розсолом (75мл). Органічний шар відділяли, сушили над сульфатом магнію і видаляли розчинник під зниженим тиском. Залишок хроматографували (силікагель, елювання спочатку 50% Dri Solv THF з етилацетатом, а потім 4% метанолу в тетрагідрофурані). Відбирання фракцій контролювали за допомогою мас-спектроскопічного детектора. Відповідні фракції ліофілізували. Одержано сполуку DZ (38,8мг, 41%).

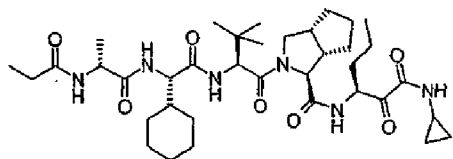


Приклад 38. Сполуки EA-EB

Вихідний матеріал - сполуку $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_4$ (185мг, 0,26ммоль) розчиняли в тетрагідрофурані (20мл). Додавали йодний реактив Десса-Мартіна (219мг, 0,52ммоль). Після перемішування протягом 1год при кімнатній температурі хроматографія в тонкому шарі (елюент 5% метанолу в тетрагідрофурані) посвідчила повне перетворення в кетон. Одержану реакційну суміш переливали в ділильну лійку, куди перед тим завантажували 120мл безводного тетрагідрофурану (сорту Dri Solv THF). Промивали суміш 10%-ним розчином сульфату натрію (50мл), а потім розсолон (75мл). Органічний шар відділяли, сушили над сульфатом магнію і видаляли розчинник під зниженим тиском. Залишок очищали хроматографією (силікагель, елювання спочатку 50% Dri Solv THF з етилацетатом, а потім 4% метанолу в тетрагідрофурані). Відбирання фракцій контролювали за допомогою УФ-детектора та мас-спектроскопічного детектора. Відповідні фракції ліофілізували. Одержано сполуку EA (159мг, 88%).

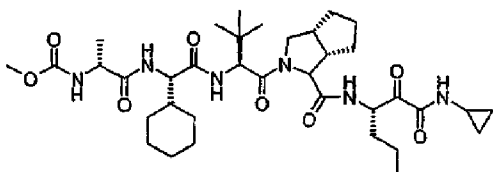


За поданою вище методикою одержання вищевказаної сполуки та способами одержання відповідних проміжних продуктів, із використанням придатних вихідних матеріалів одержано подану нижче сполуку EB:

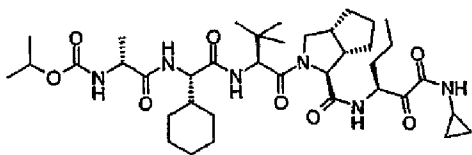


Приклад 39. Сполуки EC-ED

До розчину сполуки $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_4$ (0,341г, 0,503ммоль) в хлористому метилені (15мл), охолодженого в бані з льодом, додавали йодний реактив Десса-Мартіна (0,277г, 0,654ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 2год при кімнатній температурі, а потім гасили реакцію додаванням 10%-ного розчину сульфату натрію і перемішували 20хв. Реакційну суміш екстрагували хлористим метиленом (тричі по 20мл), і органічний екстракт сушили над сульфатом магнію. Після фільтрування для видалення сульфату магнію фільтрат концентрували і очищали хроматографією на колонці (елюент 70% етилацетату з гексаном). Одержано сполуку EC (0,183г, 54%) у вигляді білої твердої речовини.

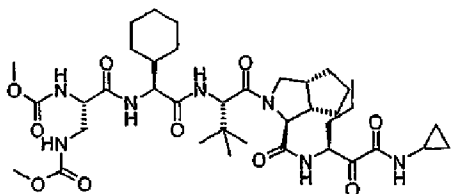


За поданою вище методикою одержання вищевказаної сполуки та способами одержання відповідних проміжних продуктів, із використанням придатних вихідних матеріалів одержано подану нижче сполуку ED:

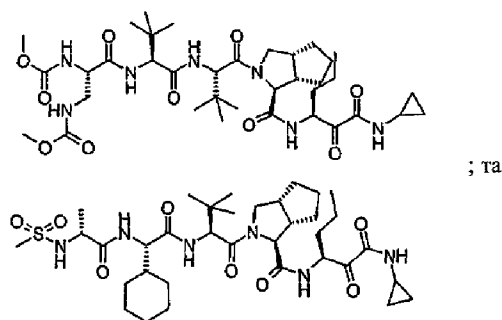


Приклад 40. Сполуки EE-EG

Сполуку $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_4$ (290мг, 0,37ммоль) розчиняли в хлористому метилені (5мл). До розчину додавали йодний реактив Десса-Мартіна (175мг, 0,41ммоль) і перемішували протягом 1год. Реакційну суміш гасили додаванням сульфату натрію, прищепленого до полімеру (1,5ммоль/г смоли) і перемішували суміш протягом 1год. Погашений реактив Десса-Мартіна видаляли смолою із прищепленою до полімеру очисною присадкою 1,5,7-триазабіцикло-[4.4.0]-дец-5-еном (2,5ммоль/г смоли). Одержану суміш фільтрували, промивали хлористим метиленом і концентрували, одержуючи залишок, який очищали, застосовуючи 50% етилацетату з гексаном. Одержано сполуку EE (440мг, вихід 28%).

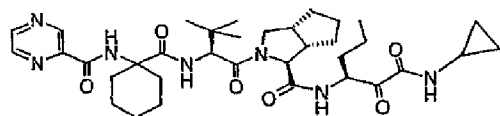


За поданою вище методикою одержання вищевказаної сполуки та способами одержання відповідних проміжних продуктів, із використанням придатних вихідних матеріалів одержано подані нижче сполуки EF-EG:



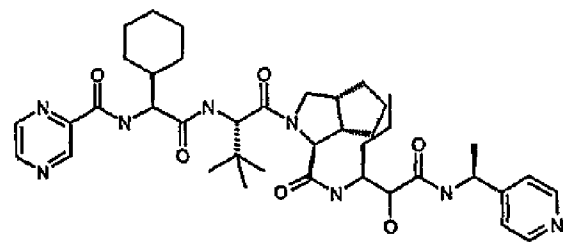
Приклад 41. Сполука EH

До розчину сполуки cxiі (140мг, 0,2ммоль) в хлористому метилені (3мл) додавали йодний реактив Десса-Мартіна (133мг, 0,3ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 2год при кімнатній температурі, а потім гасили реакцію доданням 10%-ного розчину сульфату натрію і витримували 20хв. Реакційну суміш екстрагували етилацетатом. Органічний шар промивали розсолем, сушили над сульфатом магнію і концентрували, одержуючи масло жовтого кольору. Залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 70% етилацетату з гексаном). Одержано сполуку EH (50мг, 38%)



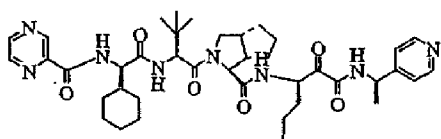
Приклад 42. Сполука EJ

Сполуку lxxxiі (520мг, 1ммоль) розчиняли в хлористому метилені (5мл). До цього розчину додавали гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідино-фосфонію (624мг, 1,2ммоль) і перемішували протягом 5хв. Додавали до суміші крапля за краплею сполуку cdviii (300мг, 1,2ммоль) в тетрагідрофурани (5мл), а потім діізопропілетиламін (0,22мл, 1,2ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі в атмосфері азоту протягом ночі. Потім суміш розбавляли етилацетатом, промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Органічну фазу сушили над сульфатом магнію, фільтрували і концентрували, одержуючи неочищений проміжний продукт сполучення cdix.



cdix

Цей проміжний продукт cdix (приблизно 1ммоль) розчиняли в хлористому метилені (10мл). До розчину додавали йодний реактив Десса-Мартіна (ДМР) (466мг, 1,1ммоль). Після перемішування протягом 1год реакційну суміш гасили доданням сульфату натрію, прищепленого до полімеру (740мг, 1,5ммоль ДМР/г смоли) і перемішували суміш протягом 45хв. Потім реакційну суміш очищали смолою із прищепленим до полімеру 1,5,7-триазабіцикло-[4.4.0]-дец-5-еном (440мг, 2,5ммоль ДМР/г смоли). Одержану суміш перемішували протягом 45хв і фільтрували. Після очищення з застосуванням 5% етанолу в етилацетаті одержано сполуку EJ (245мг, вихід по двох стадіях 32%). Відповідна методика описана в [Tetrahedron. 55. 6785-6796, 1999].

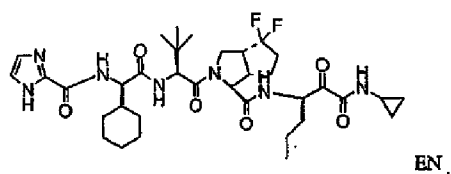


EJ

Приклад 43. Сполука EN

Проміжний продукт cdvii (415мг, 0,59ммоль) розчиняли в хлористому метилені (10мл) і тетрагідрофурани (10мл). До розчину додавали трет-бутиловий спирт (300мкл), а потім йодний реактив Десса-Мартіна (ДМР) (750мг, 1,77ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 50хв, після чого гасили доданням сульфату натрію, прищепленого до полімеру (1,5ммоль ДМР/г смоли). Після перемішування суміші протягом 20хв при

кімнатній температурі реакційну суміш очищали смолою із прищепленим до полімеру 1,5,7-триазабіцикло-[4.4.0]-дец-5-еном (440мг, 2,5ммоль ДМР/г смоли). Після перемішування протягом 1год одержану суміш фільтрували і концентрували. Продукт очищали хроматографією на силікагелі (елюент із градієнтом складу від 50% до 70% етилацетату з гексаном). Одержано сполуку EN (220мг, 53%).



Мас-спектри [M] одержано для сполук, перелічених в Таблиці 1.

Таблиця 1

Приклад	Знайдена маса
A	733,3
B	747,2
C	657,2
D	769,4
E	733,4
F	625,4
G	639,3
H	661,4
I	643,4
J	707,3
K	641,3
L	689,3
M	639,3
N	639,4
O	731,4
P	687,4
Q	653,4
R	701,4
S	639,3
T	747,1
U	655,4
V	653,4
W	703,4
X	661,3
Y	647,3
Z	663,3
AA	667,4
AB	711,4
AC	725,4
AD	647,3
AE	779,4
AP	689,3
AG	671,4
AK	806,4
AH	687,5
AI	735,4
AJ	736,5
AM	870,4
AN	813,3
AP	724,4
AQ	653,4
AR	628,2
AW	642,2
AX	614,2
AY	628,3
BD	570,3
BE	520,2
BF	534,3
BG	584,3
BU	890,3
BV	685,4
BW	679,3
BX	695,3

BY	697,3
BZ	787,4
CA	701,3
CB	669,4
CC	733,5
CD	643,3
03	653,5
CH	749,4
CI	653,3
CJ	717,5
CK	683,4
CL	669,3
CM	675,2
CN	717,2
CO	653,3
CP	683,3
CQ	669,3
CR	675,2
CT	661,8
CS	639,3
CU	679,2
CV	709,3
CW	743,3
CX	695,3
CY	665,2
CZ	681,3
DA	695,3
DB	701,2
DC	673,3
DD	693,3
DE	757,4
DF	682,3
DG	676,3
DH	676,2
DI	692,5
DJ	605,2
DK	874,4
DL	924,5
DM	924,2
DN	952,7
DO	830
DP	842,5
DT	667,4
DU	639,2
DV	740,3
DW	684,2
DX	678,5
DY	749,3
DZ	685,3
EA	649,3
EB	700,3
EC	702,3
ED	730,3
EE	775,3
EF	749,3
EG	722,3
EH	665,2
EI	796,4
EJ	744,3
EK	730,5
EL	730,5
EM	757,3
EN	703,5
EO	715,5
EP	679,2
EQ	651,3
ER	715,3
ES	668,5
ET	732,5

EU	743,3
EV	683,3
EW	750,4
EX	786,4
EY	744,5
EZ	780,4
FB	693,4
PC	655,3
FD	655,3
FE	774,4
PF	681,5
PG	667,5

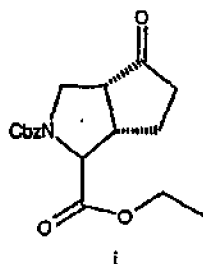
Мас-спектри високого розділення (HRMS) одержано для сполук, перелічених в Таблиці 2.

Таблиця 2

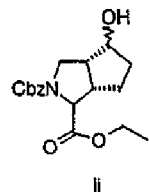
Приклад	Молекулярна формула (M+1)	Розрахований мас-спектр (M+1)	Знайдена маса (M+1)
L	C ₃₇ H ₅₂ N ₇ O ₆	690,3979	690,3986
M	C ₃₃ H ₅₀ N ₇ O ₆	640,3822	640,3822
Z	C ₃₂ H ₄₈ F ₂ N ₇ O ₆	664,3634	664,3627
AB	C ₃₆ H ₄₈ F ₂ N ₇ O ₆	712,3634	712,3649
CE	C ₃₄ H ₅₂ N ₇ O ₆	654,3979	654,3967
EN	C ₃₅ H ₅₂ N ₇ O ₆ F ₂	704,3947	704,3945
EK	C ₃₇ H ₆₃ N ₆ O ₈ S	751,4428	750,4350 (M)
EC	C ₃₆ H ₅₉ N ₆ O ₈	703,4395	703,4382
CA	C ₃₅ H ₅₀ N ₇ O ₆ F ₂	702,3790	702,3801
EZ	C ₄₀ H ₅₅ N ₈ O ₆ F ₂	781,4213	781,4196
EU	C ₃₆ H ₅₂ N ₇ O ₆ F ₂	716,3947	716,3929
CY	C ₃₅ H ₅₂ N ₇ O ₆	666,3979	666,3966
BX	C ₃₇ H ₅₈ N ₇ O ₆	696,4448	696,4432
S	C ₃₃ H ₅₀ N ₇ O ₆	640,3823	640,3831
BW	C ₃₆ H ₅₄ N ₇ O ₆	680,4136	680,4126
CU	C ₃₆ H ₅₄ N ₇ O ₆	680,4136	680,4128
EJ	C ₄₀ H ₅₇ N ₈ O ₆	745,4401	745,4417
EM	C ₃₅ H ₅₄ N ₇ O ₆	668,4136	668,4139
None	C ₄₁ H ₅₈ N ₇ O ₆	744,4448	744,4691

Приклад проміжного продукту 1. Сполука ii

До розчину сполуки i (8,1г, 24,4ммоль) в етанолі (40мл) додавали боргідрид натрію (924мг, 24,4ммоль) при температурі -10°C.



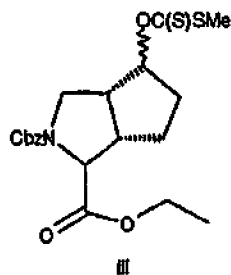
Реакційну суміш перемішували при цій температурі протягом 30хв, а потім гасили реакцію додаванням оцтової кислоти (3мл). Розбавляли реакційну суміш етилацетатом (250мл) і промивали розчином бікарбонату натрію і розсолем. Органічний шар сушили і концентрували у вакуумі. Одержаний залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 50% етилацетату з гексаном). Одержано 7,85г (97%) сполуки ii



Приклад проміжного продукту 2. Сполука iii

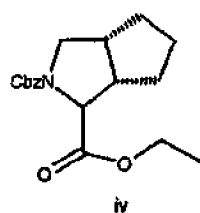
До розчину сполуки ii (4,48г, 13,4ммоль) в тетрагідрофурані (70мл) додавали гідрид натрію (699мг, 60%, 17,42ммоль) при температурі 0°C. Після перемішування при цій температурі протягом 40хв додавали нерозбавлений метилйодид (1,25мл, 20,1ммоль). Реакційну масу перемішували при кімнатній температурі

протягом ночі. Після цього реакційну масу обережно гасили додаванням насиченого розчину хлориду амонію при 0°C. Екстрагували суміш діетиловим ефіром і етилацетатом. Органічний шар промивали водою, розсолем і сушили над сульфатом натрію. Після концентрування у вакуумі одержано ксантогенат iii



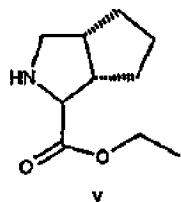
Приклад проміжного продукту 3. Сполука iv

Ксантогенат iii (приблизно 13,4ммоль) розчиняли в толуолі (100мл). До цього розчину додавали 2,2'-азобісізобутиронітрил (216мг, 1,34ммоль). Одержаний розчин знегажували продуванням сухим азотом, а потім додавали гідрид три-н-бутилолова (5,4мл, 20,1ммоль). Нагрівали реакційну суміш при 90°C протягом 3год. Потім суміш охолоджували до кімнатної температури і концентрували у вакуумі. Одержаний залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 15-20% етилацетату з гексаном). Одержано 2,8г (загальний вихід в розрахунку на сполуку ii 66%) сполуки iv



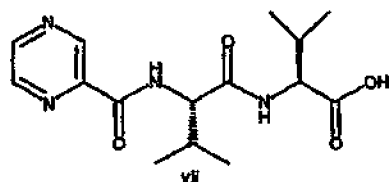
Приклад проміжного продукту 4. Сполука v

До розчину сполуки iv (1г, 3,15ммоль) в етанолі (21мл) додавали гідроксид паладію на вугіллі (655мг, 20%, 0,95ммоль) в атмосфері азоту. Одержану суміш піддавали гідруванню в стандартних умовах (тиск 1,5атм). Через 5год видаляли джерело водню і відділяли каталізатор фільтруванням. Фільтрат концентрували у вакуумі. Одержано сполуку v у формі вільного аміну

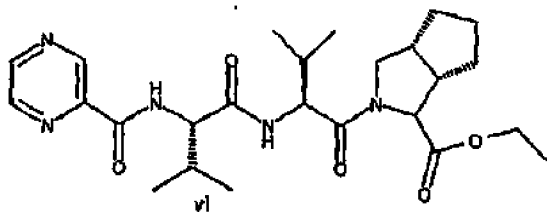


Приклад проміжного продукту 5. Сполука vi

До розчину сполуки vii (629мг, 1,95ммоль) в хлористому метилені (10мл) додавали при кімнатній температурі 1-гідрокси-7-азабензотриазол (265мг, 1,95ммоль), а потім 1М розчин дициклокарбодіїміду в хлористому метилені (1,95мл, 1,95ммоль)

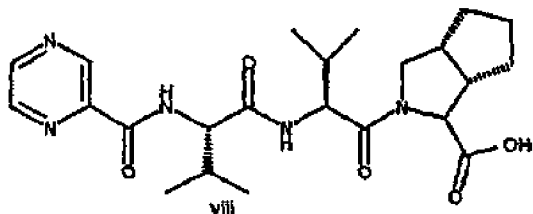


Після перемішування протягом 30хв до вищезгаданої кислоти, активованої 1-гідрокси-7-азабензотриазолом, додавали розчин сполуки v (1,5ммоль) в хлористому метилені (3мл). Реакційну суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі. Потім суміш фільтрували через шар целіту. Фільтрат розбавляли етилацетатом (75мл) і промивали водою і розсолем. Органічний шар сушили і концентрували у вакуумі. Одержаний залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 70-80% етилацетату з гексаном). Одержано 620мг (85%) сполуки vi



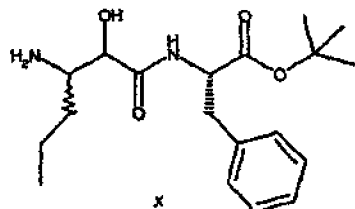
Приклад проміжного продукту 6. Сполука viii

До розчину сполуки vi (615мг, 1,26ммоль) в етанолі (10мл) додавали 2н. водний розчин гідроксиду натрію (1,26мл, 2,52ммоль). Реакційну суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі, а потім підкислювали до pH 3, застосовуючи кислотну смолу "Дауекс". Тверду фазу відділяли фільтруванням, а фільтрат концентрували у вакуумі, одержуючи залишок, який розчиняли в суміші ацетонітрилу з водою (1:1). Цей розчин ліофілізували. Одержано 495мг (85%) сполуки viii

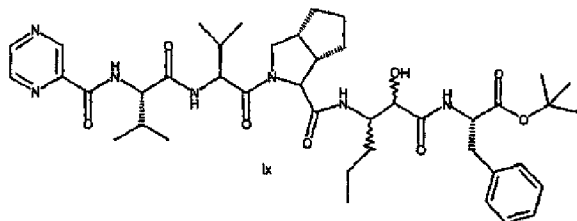


Приклад проміжного продукту 7. Сполука ix

До розчину сполуки viii (230мг, 0,5ммоль) в хлористому метилені (10мл) додавали гексафторфосфат бензотриазол-1-ілокситрис-піролідіно-фосфонію (417мг, 0,8ммоль). Реакційну суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом 30хв. До цього розчину потім додавали розчин сполуки x (263мг, 0,75ммоль) в тетрагідрофурані (5,25мл)

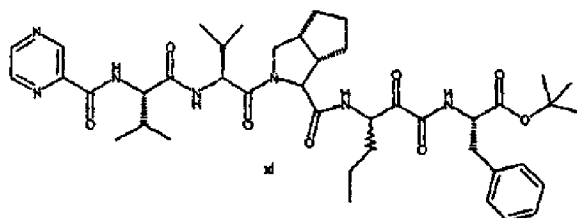


а потім діізопропілетиламін (0,174мл, 1ммоль). Реакційну суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі. Потім суміш екстрагували етилацетатом (100мл). Органічний шар промивали розсолон, сушили і концентрували у вакуумі. Одержаний залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 5% етанолу в етилацетаті). Одержано приблизно 400мг (100%) сполуки ix



Приклад проміжного продукту 8. Сполука xi

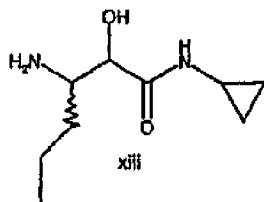
До розчину сполуки ix (396мг, 0,5ммоль) в хлористому метилені (10мл) додавали йодний реактив Десса-Мартіна (278мг, 0,65ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 1 год при кімнатній температурі, а потім гасили реакцію доданням 10%-ного розчину сульфату натрію і витримували 30хв. Реакційну суміш екстрагували етилацетатом (75мл) і промивали розсолон. Органічний шар сушили і концентрували у вакуумі. Залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 70% етилацетату з гексаном). Одержано сполуку xi (320мг, 81%)



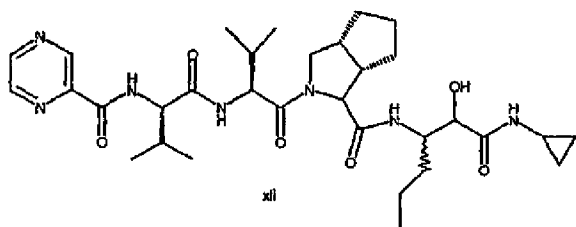
Приклад проміжного продукту 9. Сполука xii

До розчину сполуки viii (230мг, 0,5ммоль) в хлористому метилені (10мл) додавали гексафторфосфат

бензотриазол-1-ілокситрис-піролідино-фосфонію (417мг, 0,8ммоль). Реакційну суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом 30хв. До цього розчину потім додавали розчин сполуки хііі (140мг, 0,75ммоль) в тетрагідрофурані (3,5мл)

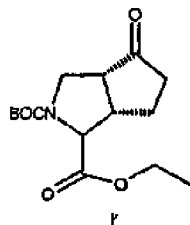


а потім діізопропіл етил амін (0,174мл, 1ммоль). Реакційну суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі, після чого гасили водою (30мл) і перемішували 30хв. Потім суміш екстрагували етилацетатом (75мл). Органічний шар промивали розсолем, сушили і концентрували у вакуумі. Одержаний залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 5% етанолу в етилацетаті). Одержано сполуку хіі з кількісним виходом



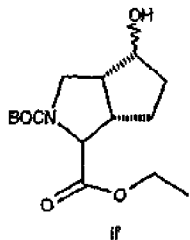
Приклад проміжного продукту 10. Сполука і'

До розчину сполуки і (5г, 15,1ммоль) в метанолі (30мл) додавали $(\text{BOC})_2\text{O}$ (3,3г, 15,1ммоль) і водень із гідроксидом паладію на вугіллі (1,6г, 10% паладію). Реакційну суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом 2год і двічі фільтрували через шар целіту. Целіт промивали хлористим метиленом. Об'єднані фільтрати концентрували у вакуумі. Одержано маслянистий залишок, який очищали хроматографією на силікагелі (елюент 40% етилацетату з гексаном). Одержано 3,8г (85%) сполуки і'



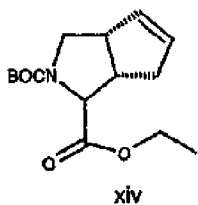
Приклад проміжного продукту 11. Сполука іі'

До розчину сполуки і' (3,7г, 12,5ммоль) в метанолі (111мл) додавали боргідрид натрію (0,805г, 21ммоль) при температурі 0°C. Після перемішування протягом 2,5год при 0°C розчинник повільно випаровували у вакуумі і одержаний залишок розбавляли етилацетатом. Двічі промивали розчин водою. Водний шар екстрагували етилацетатом. Об'єднані органічні шари сушили над сульфатом магнію, сушили і концентрували у вакуумі. Одержаний залишок очищали хроматографією. Одержано 3,76г (99%) сполуки іі'



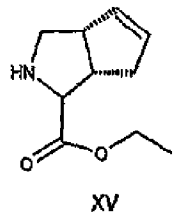
Приклад проміжного продукту 12. Сполука хіv

До розчину сполуки іі' (3,76г, 12,3ммоль) в хлористому метилені (180мл) додавали при температурі 0°C 4-(N,N-диметиламіно)піридин (5г, 40,1ммоль), а потім трифлат-ангідрид (4мл, 23,7ммоль). Перемішували суміш при 0°C протягом 1год, а потім ще 1,5год при приблизно кімнатній температурі. Промивали реакційну суміш двічі 5%-ним розчином бікарбонату натрію і сушили над сульфатом магнію. Органічний шар концентрували у вакуумі і одержували неочищений трифлат. Цей продукт (2,7г, 6ммоль) розчиняли в хлористому метилені (120мл). До цього розчину додавали 4-(N,N-диметиламіно)піридин (2,5г, 20,5ммоль). Одержану суміш нагрівали зі зворотним холодильником протягом ночі, потім охолоджували до кімнатної температури і двічі промивали 5%-ним розчином бікарбонату натрію. Сушили суміш над сульфатом магнію, фільтрували і концентрували у вакуумі, одержуючи масло коричневатого кольору, яке очищали (1% метанолу в хлористому метилені). Одержано 500мг (30%) сполуки хіv



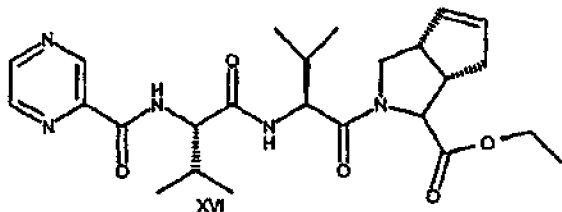
Приклад проміжного продукту 13. Сполука xv

Сполуку xiv (500мг, 1,8ммоль) розчиняли в 4н. розчині хлороводню в діоксані (6,75мл). Реакційну суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом приблизно 4год. Потім розчинник видаляли у вакуумі. Одержаний залишок двічі розтирали з діетиловим ефіром. Одержано гідрохлорид сполуки xv з майже кількісним виходом.



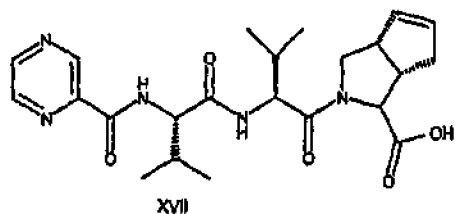
Приклад проміжного продукту 14. Сполука xvi

До розчину сполуки vii (579мг, 1,8ммоль) в тетрагідрофурані (7мл) додавали 1-гідрокси-7-азабензотриазол (245мг, 1,8ммоль), а потім дициклокарбодіімід (1,8мл, 1,8ммоль, 1 М розчин у хлористому метилени). При цьому утворювалася суспензія. Після перемішування при приблизно кімнатній температурі протягом 15хв до цієї суспензії додавали розчин сполуки xv (1,8ммоль) в тетрагідрофурані (6мл), а потім діізопропілетиламін (0,63мл, 3,6ммоль). Реакційну суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі. Потім відділяли фільтруванням білий твердий осад. Осад на фільтрі промивали тетрагідрофураном. Об'єднані фільтрат і промивний розчин концентрували у вакуумі, одержуючи неочищений продукт, який очищали хроматографією на силікагелі (елюент 100% етилацетат). Одержано 665мг (76%) сполуки xvi



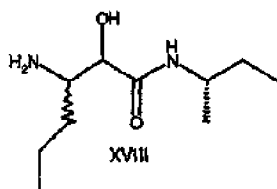
Приклад проміжного продукту 15. Сполука xvii

До розчину xvi (665мг, 1,37ммоль) в етанолі (8мл) додавали при 0°C 1н. водний розчин гідроксиду натрію (2,4ммоль). Реакційну суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі, а потім підкислювали до pH 3, застосовуючи кислотну смолу "Дауекс". Тверду фазу відділяли фільтруванням. Фільтрат концентрували у вакуумі, одержуючи залишок світложовтого кольору, який розчиняли в суміші ацетонітрилу з водою (1:1). Цей розчин ліофілізували. Одержано 467мг (74%) сполуки xvii

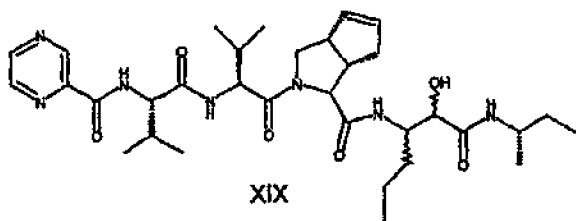


Приклад проміжного продукту 16. Сполука xix

Розчин сполуки xvii (100мг, 0,22ммоль) в хлористому метилени (4мл) обробляли гексафторфосфатом бензотриазол-1-ілокситрис-піролідино-фосфонію (207мг, 0,4ммоль) при приблизно кімнатній температурі протягом 20хв. До цього розчину потім додавали розчин сполуки xviii (65мг, 0,32ммоль) в тетрагідрофурані (2,6мл)

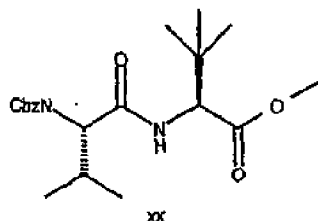


а потім діізопропілетиламін (0,076мл). Після перемішування при приблизно кімнатній температурі протягом 7 год реакційну суміш гасили водою. Потім суміш розбавляли хлористим метилом (60мл). Органічний шар відділяли, двічі промивали розсолон і сушили над сульфатом магнію. Після фільтрування, концентрування і очищення хроматографією на силікагелі (елюент 5% етанолу в етилацетаті) одержано 148мг (приблизно 100%) сполуки хіх



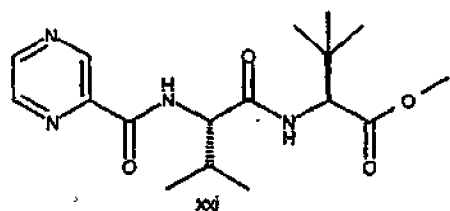
Приклад проміжного продукту 17. Сполука хх

До розчину N-Cbz-L-валіну (14,4г, 57,2ммоль) в тетрагідрофурані (100мл) додавали 1-гідроксибензтриазол (7,72г, 57,2ммоль) і гідрохлорид 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)-карбодііміду (10,98г, 57,2ммоль). Після перемішування протягом 20хв при приблизно кімнатній температурі до вищезгаданого розчину додавали розчин гідрохлориду метилового складного ефіру трет-L-лейцину (10,4г, 57,2ммоль) і діізопропілетиламіну (11,9мл, 68,7ммоль) в тетрагідрофурані (50мл). Реакційну суміш перемішували протягом ночі при приблизно кімнатній температурі. Після стандартного оброблення водою і хроматографування на силікагелі (елюент 30% етилацетату в гексані) одержано 14г (64%) сполуки хх



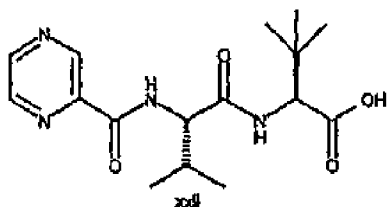
Приклад проміжного продукту 18. Сполука ххі

До розчину сполуки хх (6,71г, 17,7ммоль) в метанолі (80мл) додавали в атмосфері азоту паладій на вугіллі (1,88г, 10% паладію). Реакційну суміш піддавали гідруванню (тиск водню 1 атм) протягом ночі при приблизно кімнатній температурі. Потім реакційну суміш фільтрували через шар целіту і концентрували у вакуумі, одержуючи неочищений вільний амін для наступної стадії. Розчин цього аміну (приблизно 17,7ммоль) в тетрагідрофурані додавали до розчину 2-піразинкарбонової кислоти (2,85г), сполуки НОВТ (3,12г, 23ммоль) та гідрохлориду 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодііміду (4,41г, 23ммоль) в тетрагідрофурані (46мл) і диметилформаміді (5мл). Потім до одержаної суміші додавали діізопропілетиламін (3,08г, 17,7ммоль). Реакційну суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі, після чого гасили водою. Екстрагували суміш етилацетатом. Органічний шар промивали розсолон і концентрували у вакуумі, одержуючи залишок, який очищали хроматографією на силікагелі (елюент 40-50% етилацетату з гексаном). Одержано 3,9г (63%) сполуки ххі



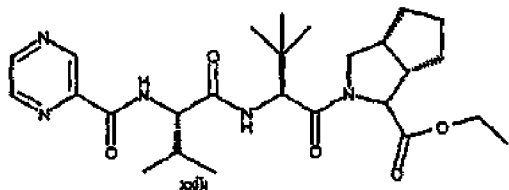
Приклад проміжного продукту 19. Сполука ххіі

До розчину сполуки ххі (4,67г, 13,34ммоль) в метанолі (40мл) додавали 2н. розчин гідроксиду натрію (10мл, 20ммоль). Реакційну суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом 2 год. Додавали додаткову кількість 2н. розчину гідроксиду натрію (3,3мл, 6,67ммоль). Після перемішування при приблизно кімнатній температурі протягом ночі реакційну суміш підкислювали до рН 3, застосовуючи кислотну смолу. Суміш фільтрували і концентрували фільтрат у вакуумі, одержуючи залишок, який розчиняли в суміші ацетонітрилу з водою (1:1) для ліофілізації. Одержано 4,15г (93%) сполуки ххіі



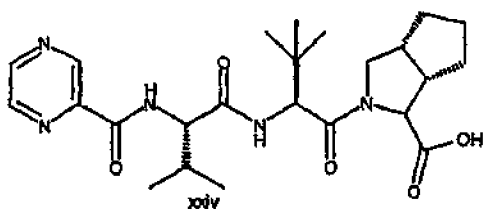
Приклад проміжного продукту 20. Сполука ххііі

До розчину сполуки ххii (917мг, 2,73ммоль) в хлористому метилені (10мл) додавали 1-гідрокси-7-азабензотриазол (371мг, 2,73ммоль), а потім дициклокарбодіїмід (2,73мл, 2,73ммоль, 1М розчин). Після перемішування протягом 30хв до реакційної суміші додавали розчин сполуки v (500мг, 2,73ммоль) в тетрагідрофурани (10мл). Після перемішування при приблизно кімнатній температурі протягом ночі відділяли фільтруванням білий твердий осад (сечовину). Фільтрат концентрували у вакуумі, одержуючи залишок, який очищали хроматографією на силікагелі (елюент 60-70% етилацетату з гексаном). Одержано 1,06г (77%) сполуки ххiii



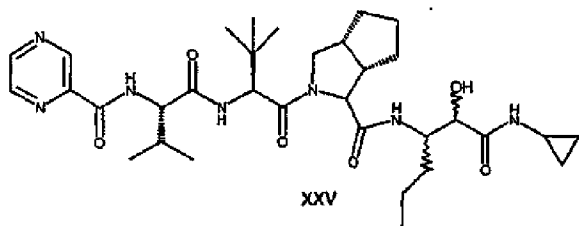
Приклад проміжного продукту 21. Сполука ххiv

До розчину сполуки ххiii (1,06г, 2,11ммоль) в етанолі (20мл) додавали 2н. розчин гідроксиду натрію (2,11мл, 4,23ммоль). Після перемішування при приблизно кімнатній температурі протягом ночі реакційну суміш підкислювали до pH 3, застосовуючи кислотну смолу. Тверду фазу відділяли фільтруванням. Фільтрат концентрували у вакуумі, одержуючи залишок, який ліофілізували. Одержано приблизно 1г (100%) сполуки ххiv



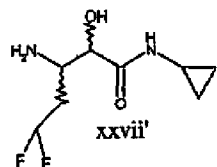
Приклад проміжного продукту 22. Сполука ххv

Розчин сполуки ххiv (236,7мг, 0,5ммоль) в хлористому метилені (10мл) обробляли гексафторфосфатом бензотриазол-1-ілокситрис-піролідіно-фосфонію (417мг, 0,8ммоль). Після перемішування при приблизно кімнатній температурі протягом 20хв до реакційної суміші додавали розчин сполуки ххii (139,5мг, 0,75ммоль) в диметилформаміді (5,6мл), а потім діізопропілетиламін (0,174мл, 1ммоль). Після перемішування при приблизно кімнатній температурі протягом 8год реакційну суміш гасили водою і екстрагували етилацетатом. Органічний шар промивали розсолон, сушили і концентрували у вакуумі, одержуючи залишок, який очищали хроматографією на силікагелі (елюент 5% етанолу в етилацетаті). Одержано приблизно 320мг (100%) сполуки ххv

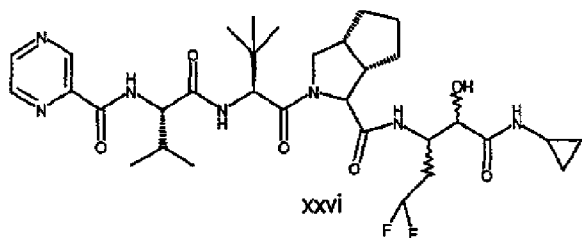


Приклад проміжного продукту 23. Сполука ххvi

Розчин сполуки ххiv (355мг, 0,75ммоль) в хлористому метилені (15мл) обробляли гексафторфосфатом бензотриазол-1-ілокситрис-піролідіно-фосфонію (622мг, 1,2ммоль). Після перемішування при приблизно кімнатній температурі протягом 20хв до реакційної суміші додавали розчин сполуки ххvii' (156мг, 0,75ммоль) в тетрагідрофурани (10мл)



а потім діізопропілетиламін (0,26мл, 1,5ммоль). Після перемішування при приблизно кімнатній температурі протягом ночі реакційну суміш гасили водою і екстрагували етилацетатом. Органічний шар промивали розсолон, сушили і концентрували у вакуумі, одержуючи залишок, який очищали хроматографією на силікагелі (елюент 2% етанолу в етилацетаті). Одержано приблизно 400мг (80%) сполуки ххvi



Приклад проміжного продукту 24. Метил-5-ціанпентаноат

Ціанід калію (4г, 61,44ммоль) розчиняли в 70мл води і 200мл метанолу. До розчину додавали 10г (51,2ммоль) метил-5-бромпентаноату і нагрівали суміш зі зворотним холодильником протягом ночі. Концентрували реакційну суміш досуха. До залишку додавали 100мл етилацетату для екстрагування продукту. Органічний шар тричі промивали водою, сушили і концентрували. Одержано 5,37г (74%) метил-5-ціанпентаноату у вигляді масла.

Приклад проміжного продукту 25. Метил-5-тетразол-5-ілпентаноат

Метил-5-ціанпентаноат (4,8г, 34ммоль) розчиняли в толуолі, додавали хлорид триетиламонію (14г, 102ммоль) і азид натрію (6,63г, 102ммоль). Нагрівали суміш зі зворотним холодильником протягом ночі. Охолоджували реакційну суміш до кімнатної температури і додавали воду (тричі по 100мл) для екстрагування метил-5-тетразол-5-ілпентаноату з органічної фази. Додавали до водної фази концентровану хлористоводневу кислоту до встановлення pH 2. Екстрагували продукт із водного розчину етилацетатом (тричі по 50мл). Об'єднані органічні екстракти сушили і концентрували. Одержано 4,25г (68%) метил-5-тетразол-5-ілпентаноату.

Приклад проміжного продукту 26. Метил-5-[N-(1,1-диметилбензил)тетразол-5-іл]пентаноат

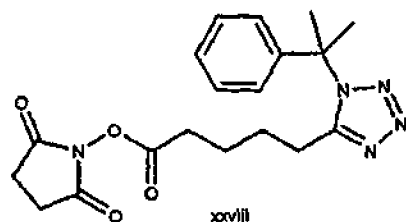
Метил-5-тетразол-5-ілпентаноат (4,23г, 23ммоль) і трихлороцтову кислоту (8,69г, 53ммоль) розчиняли в 50мл хлороформу. До розчину крапля за краплею додавали α -метилстирол (2,72г, 23ммоль) і перемішували реакційну суміш при приблизно кімнатній температурі протягом ночі. Розбавляли реакційну суміш етилацетатом до об'єму 200мл, органічний шар промивали 10%-ним водним розчином гідроксиду калію і розсоллом, сушили і концентрували. Продукт очищали флеш-хроматографією на колонці. Одержано 6,6 г (95%) метил-5-[N-(1,1-диметилбензил)тетразол-5-іл]пентаноату.

Приклад проміжного продукту 27. 5-[N-(1,1-диметилбензил)тетразол-5-іл] валеріанова кислота

Метил-5-[N-(1,1-диметилбензил)тетразол-5-іл]пентаноат (6,6г, 21,8ммоль) розчиняли в метанолі (100мл) і додавали 23мл 1н. водного розчину гідроксиду натрію. Суміш перемішували протягом ночі і концентрували для видалення метанолу. Залишок розчиняли у воді (100мл) і нейтралізували розчин додаванням еквівалентної кількості 1н. хлористоводневої кислоти. Продукт екстрагували етилацетатом (тричі по 50мл). Об'єднані органічні екстракти сушили і концентрували. Об'єднані органічні екстракти сушили і концентрували. Одержано 4,75г (75%) 5-[N-(1,1-диметилбензил)тетразол-5-іл]валеріанової кислоти.

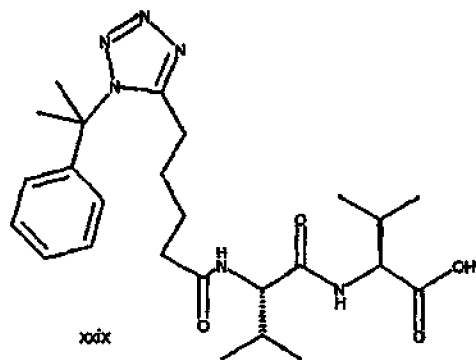
Приклад проміжного продукту 28. Сполука xxviii

5-[N-(1,1-диметилбензил)тетразол-5-іл]валеріанову кислоту (4,75г, 16,5ммоль) розчиняли в хлористому метилені (100мл) і додавали 4,8г (24,8ммоль) гідрохлориду 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодііміду і 6мл діізопропілетиламіну. До одержаної суміші додавали N-гідроксисукцинімід (3,8г, 33ммоль). Суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом 3год. Розбавляли суміш хлористим метиленом до об'єму 200мл і промивали тричі водою. Органічний шар сушили і концентрували. Одержано 4,79г (75%) сполуки xxviii



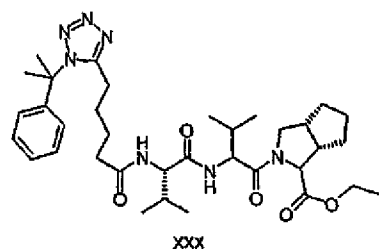
Приклад проміжного продукту 29. Сполука xxix

Дипептид H-Val-Val-OH (3,22г, 14,9ммоль) суспендували в 50мл диметилформаміді і додавали 4,75г (12,42ммоль) сполуки xxviii, а потім 3,4мл (18,63ммоль) діізопропілетиламіну. Нагрівали суміш до 40°C і перемішували протягом ночі. Випаровували розчинник у високому вакуумі. Залишок розчиняли в етилацетаті, промивали 1н. хлористоводневою кислотою і розсоллом. Одержано 5,52г (91%) сполуки xxix



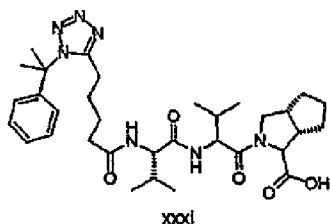
Приклад проміжного продукту 30. Сполука xxx

1,6г (3,29ммоль) сполуки ххх розчиняли в 20мл хлористого метилу і додавали 3,3мл 1М розчину дициклокарбодіміду в тетрагідрофурані. До цієї суміші додавали 500мг (2,73ммоль) сполуки v. Суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі. Розбавляли суміш етилацетатом до об'єму 100мл і промивали 1н. хлористоводневою кислотою, бікарбонатом натрію і розсоллом. Очищення хроматографією на колонці (елюент 50% етилацетату з гексаном) дало 1,02г (58%) сполуки хох



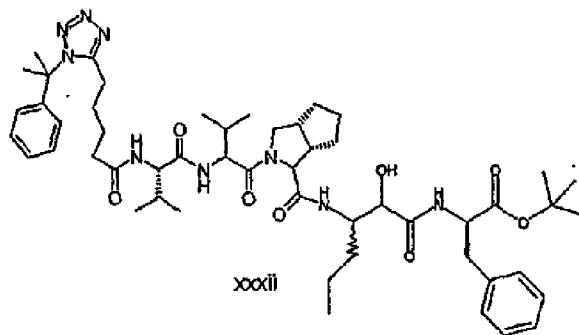
Приклад проміжного продукту 31. Сполука хххі

Сполуку ххх (1,02г, 1,57ммоль) розчиняли в 10мл метанолу і додавали 2мл 1н. водного розчину гідроксиду натрію. Суміш перемішували протягом ночі. Метанол видаляли випаровуванням, залишок розчиняли у воді і нейтралізували 2мл хлористоводневої кислоти. Після екстракції етилацетатом одержано 1,00г (приблизно 100%) сполуки хххі



Приклад проміжного продукту 32. Сполука хххіі

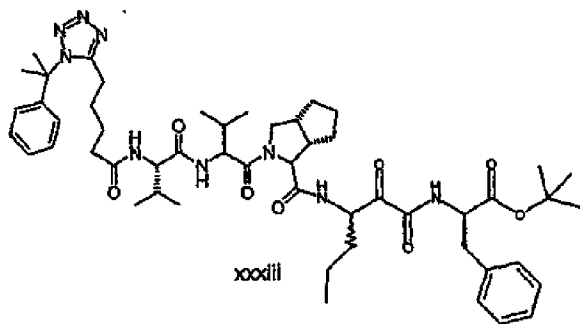
Сполуку хххі (300мг, 0,48ммоль) і гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (300мг, 0,58ммоль) розчиняли в 10мл хлористого метилу. До розчину додавали сполуку х (201мг, 0,58ммоль), а потім діізопропілетиламін (104мкл). Суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі. Розбавляли суміш етилацетатом до об'єму 100мл і промивали двічі 1н. хлористоводневою кислотою, двічі бікарбонатом натрію і тричі розсоллом. Органічний шар сушили і концентрували. Залишок очищали хроматографією на колонці (елюент 100%-ний етилацетат). Одержано 450мг (98%) сполуки хххіі



Приклад проміжного продукту 33. Сполука хххііі

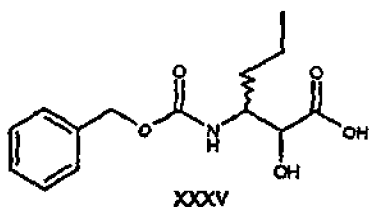
Сполуку хххіі (360мг, 0,38ммоль) розчиняли в 8мл хлористого метилу і додавали 240мг (0,57ммоль) йодного реактиву Десса-Мартіна. Суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом 3год. Суміш розбавляли етилацетатом до об'єму 50мл і тричі промивали розсоллом. Продукт очищали

хроматографією на колонці (елюент 25% етанолу в етилацетаті). Одержано 300мг (83%) сполуки xxxiii

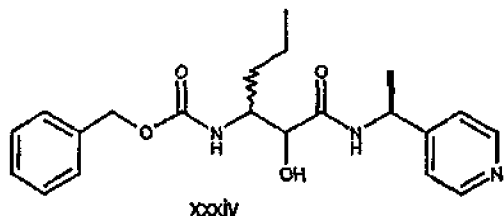


Приклад проміжного продукту 34. Сполука xxxiv

До розчину сполуки xxxv (790мг, 2,80ммоль) в хлористому метилені (10мл) додавали гексафторфосфат бензотриазол-1-ілокситрис-піролідіно-фосфонію (1,7г, 3,36ммоль) і сполуку НОВТ (450мг, 3,36ммоль).



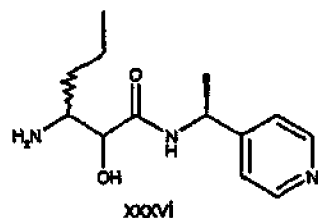
Одержаний розчин охолоджували до 0°C і додавали розчин (s)- α -(4-піридил)етиламіну (410мг, 3,36ммоль) в хлористому метилені (3мл). Потім додавали діізопропілетиламін (0,5мл, 3,36ммоль). Реакційну суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі, після чого розбавляли етилацетатом. Усю масу промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Одержаний при цьому органічний шар сушили і концентрували у вакуумі. Залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 5% етанолу в етилацетаті). Одержано 630мг (58%) сполуки xxxiv



Примітка: (s)- α -(4-піридил)етиламін одержують із D-тартрату шляхом промивання основою (1н. гідроксидом натрію) і наступної екстракції етилацетатом. Вихід вільної основи 89%.

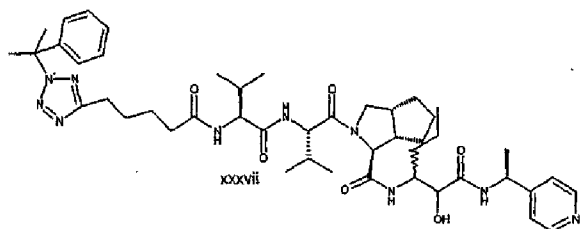
Приклад проміжного продукту 35. Сполука xxxvi

До розчину сполуки xxxiv (630мг, 1,64ммоль) в метанолі (15мл) додавали в атмосфері азоту паладій на вугіллі (150мг, 10% паладію). Реакційну суміш перемішували в атмосфері водню протягом ночі. Потім реакційну суміш фільтрували через шар целіту (Celite® 521). Фільтрат концентрували у вакуумі. Одержано 420мг (приблизно 100%) сполуки xxxvi



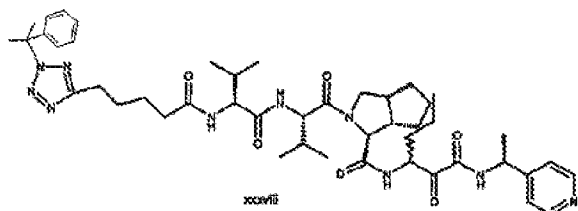
Приклад проміжного продукту 36. Сполука xxxvii

До розчину сполуки xxxi (270мг, 0,43ммоль) в хлористому метилені (3мл) додавали гексафторфосфат бензотриазол-1-ілокситрис-піролідіно-фосфонію (270мг, 0,52ммоль). Потім додавали сполуку xxxvi (160мг, 0,64ммоль) і діізопропілетиламін (0,09мл, 0,52ммоль). Реакційну суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі, після чого розбавляли етилацетатом, промивали 0,1н. хлористоводневою кислотою, потім насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Одержаний при цьому органічний шар сушили і концентрували, одержуючи сполуку xxxvii (загальна маса 430мг), яку використовували на наступній стадії



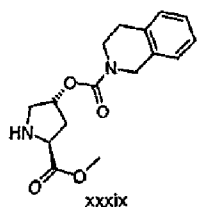
Приклад проміжного продукту 37. Сполука xxxviii

До розчину сполуки xxxvii (370мг, 0,43ммоль) в хлористому метилені (3мл) додавали йодний реактив Десса-Мартіна (280мг, 0,65ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 2 год при приблизно кімнатній температурі, а потім гасили реакцію додаванням 10%-ного розчину сульфату натрію. Після перемішування протягом 30хв реакційну суміш екстрагували етилацетатом. Органічний шар промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем, сушили і концентрували у вакуумі. Залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 5% етанолу в етилацетаті). Одержано 180мг (вихід по двом стадіям 49%) сполуки xxxviii

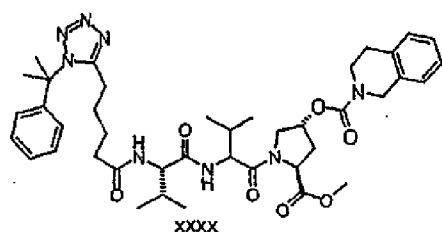


Приклад проміжного продукту 38. Сполука xxxx

Сполуку xxix (2,5г, 5ммоль) розчиняли в 40мл хлористого метилену і додавали до розчину 5,1мл 1М розчину дициклокарбодіміду в тетрагідрофурані. До одержаної суміші додавали 1,08г (3,53ммоль) сполуки xxxix

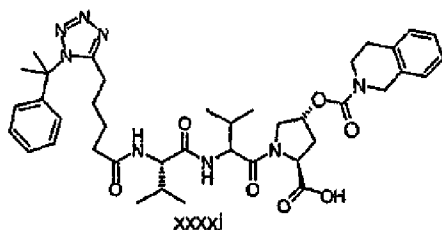


Суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі. Суміш розбавляли етилацетатом до об'єму 100мл і промивали послідовно 1н. хлористоводневою кислотою, розчином бікарбонату натрію і розсолем, після чого очищали хроматографією на колонці (елюент 80% етилацетату з гексаном). Одержано 2,59г (95%) сполуки xxxx



Приклад проміжного продукту 39. Сполука xxxxi

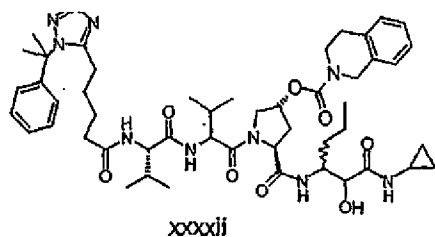
Сполуку xxxx (2,59г, 3,35ммоль) розчиняли в 20мл метанолу і додавали 4мл 1н. водного розчину гідроксиду натрію. Суміш перемішували протягом ночі, а потім метанол видаляли у ротормному випарнику, одержуючи залишок, який розчиняли у воді і нейтралізували 2мл хлористоводневої кислоти. Нейтралізований розчин екстрагували етилацетатом. Одержано 2,49г (приблизно 100%) сполуки xxxxi.



Приклад проміжного продукту 40. Сполука xxxxi

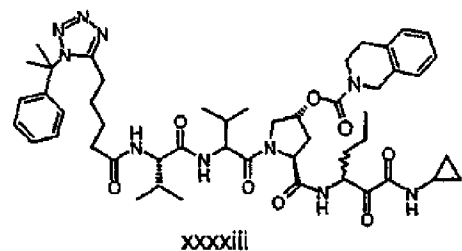
Сполуку xxxxi (847мг, 1,16ммоль) і гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (724мг, 1,39ммоль) розчиняли в 10мл хлористого метилену. До розчину додавали сполуку xiii (260мг,

1,39ммоль), а потім діізопропілетиламін (209мл). Суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі. Розбавляли суміш етилацетатом до об'єму 100мл і промивали двічі 1н. хлористоводневою кислотою, двічі бікарбонатом натрію і тричі розсолон. Органічний шар сушили і концентрували. Залишок очищали хроматографією на колонці (елюент 5% етанолу в етилацетаті). Одержано 930мг (86%) сполуки xxxxi



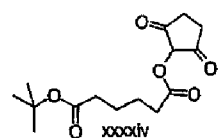
Приклад проміжного продукту 41. Сполука xxxxi

Сполуку xxxxi (350мг, 0,38ммоль) розчиняли в 10мл хлористого метилену і додавали 242мг (0,57ммоль) йодного реактиву Десса-Мартіна. Суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом 3год. Розбавляли суміш етилацетатом до об'єму 50мл і тричі промивали розсолон. Продукт очищали хроматографією на колонці (елюент 100%-ний етилацетат). Одержано 180мг (51%) сполуки xxxxi

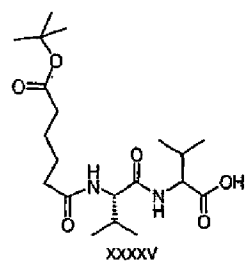


Приклад проміжного продукту 42. Сполука xxxxi

Дипептид H-Val-Val-OH (5г, 23ммоль) суспендували в 100мл диметилформаміду і додавали 8,3г (27,6ммоль) сполуки xxxxi

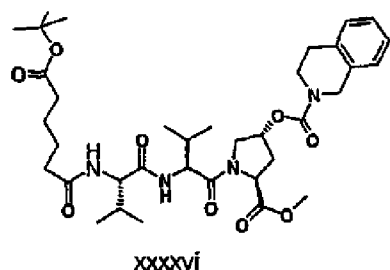


а потім 6,2мл (35,5ммоль) діізопропілетиламіну. Перемішували суміш при 40°C протягом двох діб. Випаровували розчинник у високому вакуумі. Залишок розчиняли в 100мл етилацетату, промивали тричі 1н. хлористоводневою кислотою і двічі розсолон. Одержано 9,14г (99%) сполуки xxxxi



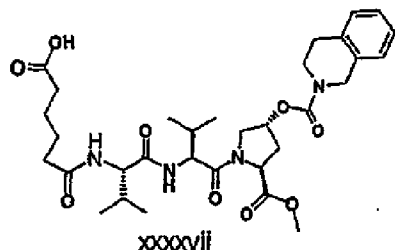
Приклад проміжного продукту 43. Сполука xxxxi

Сполуку xxxxi (2,8г, 7ммоль) і 954мг (7ммоль) 1-гідрокси-7-азабензотриазолу розчиняли в 100мл хлористого метилену. Додавали 7мл 1М розчину дициклокарбодіміду в хлористому метилені. Додавали до реакційної суміші сполуку xxxxi (2,15г) і перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі. Випаровували суміш досуха, розчиняли залишок в етилацетаті і очищали хроматографією на колонці (елюент 100%-ний етилацетат). Одержано 4,57г (95%) сполуки xxxxi



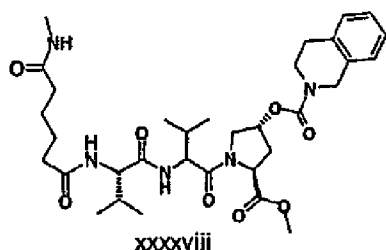
Приклад проміжного продукту 44. Сполука xxxvii

Сполуку xxxvi (4,57г, 6,65ммоль) розчиняли в 10мл трифтороцтової кислоти і 10мл хлористого метилена. Суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом 4год. Видаляли розчинник у вакуумі, а залишок розчиняли в суміші ацетонітрилу з водою (50:50) і ліофілізували. Одержано у вигляді порошку сполуку xxxvii



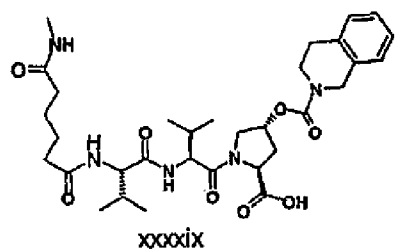
Приклад проміжного продукту 45. Сполука xxxviii

Сполуку xxxvii (1г, 1,59ммоль) і гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (990мг, 2,28ммоль) розчиняли в 20мл хлористого метилена і додавали 1,6мл 1М розчину метиламіну в тетрагідрофурані. Суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом 4год. Розбавляли суміш етилацетатом до об'єму 100мл і промивали 1н. хлористоводневою кислотою, бікарбонатом натрію і розсолем. Залишок очищали флеш-хроматографією на колонці (елюент 10% етанолу в етилацетаті). Одержано 1г (98%) сполуки xxxviii



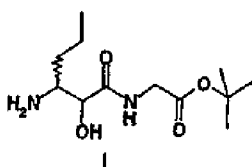
Приклад проміжного продукту 46. Сполука xxxix

Сполуку xxxviii (1г, 1,55ммоль) розчиняли в 10мл метанолу і додавали 2мл 1н. водного розчину гідроксиду натрію. Суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі. Розчинник видаляли випаровуванням. Залишок розчиняли у воді, нейтралізували і екстрагували етилацетатом. Одержано 960мг (98%) сполуки xxxix

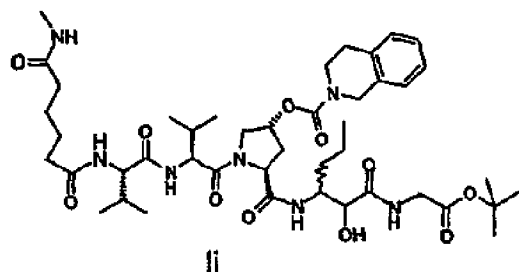


Приклад проміжного продукту 47. Сполука li

Сполуку xxxix (315мг, 0,5ммоль) і гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (312мг, 0,6ммоль) розчиняли в 10мл хлористого метилена. До розчину додавали сполуку I (56мг, 0,6ммоль) і діізопропілетиламін (108мкл).

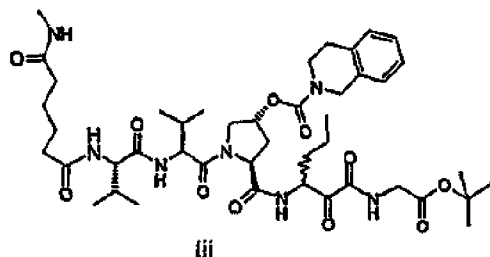


Суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі, розбавляли етилацетатом до об'єму 100мл і промивали 1н. хлористоводневою кислотою, бікарбонатом натрію і розсолем. Очищали хроматографією на колонці (елюент 15% етанолу в етилацетаті). Одержано 400мг (92%) сполуки li



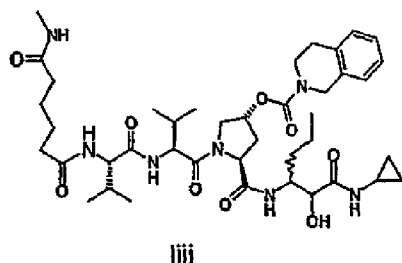
Приклад проміжного продукту 48. Сполука iii

Сполуку ii (400мг, 0,46ммоль) розчиняли в 10мл хлористого метилена і додавали 292мг (0,69ммоль) йодного реактиву Десса-Мартіна. Реакційну суміш перемішували протягом 3год при приблизно кімнатній температурі. Розчинник видаляли випаровуванням і очищали продукт РХВЕ-ОФ. Одержано 130мг (32%) сполуки iii



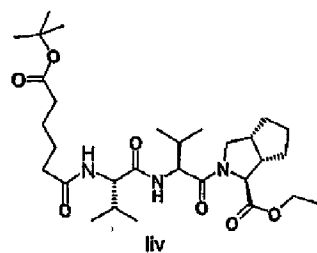
Приклад проміжного продукту 49. Сполука liii

Сполуку xxxix (210мг, 0,33ммоль) і гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (208мг, 0,4ммоль) розчиняли в 10мл хлористого метилена. До розчину додавали сполуку xiii (154мг, 0,83ммоль), а потім діізопропілетиламін (72мкл, 0,4ммоль). Суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі. Розбавляли суміш етилацетатом до об'єму 100мл і промивали 1н. хлористоводневою кислотою, бікарбонатом натрію і розсолем і очищали флеш-хроматографією на колонці (елюент 10% етанолу в етилацетаті). Одержано 250мг (95%) сполуки liii



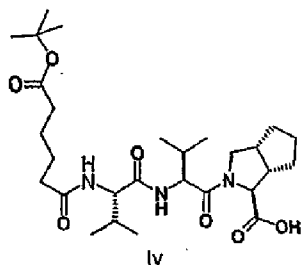
Приклад проміжного продукту 50. Сполука liv

Сполуку xxxv (755мг, 1,88ммоль) і 255мг (1,88ммоль) 1-гідрокси-7-азабензотриазолу розчиняли в 20мл хлористого метилена. Додавали 1,88мл 1М розчину дициклокарбодіміду в хлористому метилені. Додавали до реакційної суміші сполуку v (288мг) і перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом 2год. Випаровували суміш досуха, розчиняли залишок в етилацетаті і очищали хроматографією на колонці (елюент 80% етилацетату з гексаном). Одержано 800мг (90%) сполуки liv



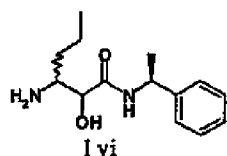
Приклад проміжного продукту 51. Сполука lv

Сполуку liv (800мг, 1,41ммоль) розчиняли в 10мл метанолу і додавали 2мл 1н. водного розчину гідроксиду натрію. Суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі. Розчинник видаляли випаровуванням. Залишок розчиняли у воді, нейтралізували 2мл хлористоводневої кислоти. Продукт екстрагували етилацетатом. Після випаровування розчинника-екстрагента одержано 760мг (приблизно 100%) сполуки lv

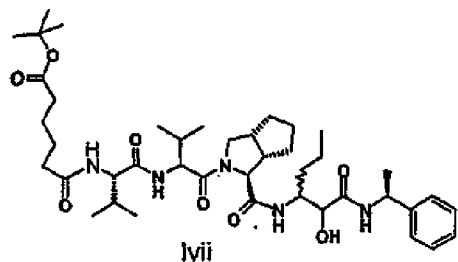


Приклад проміжного продукту 52. Сполука Ivii

Сполуку IV (760мг, 1,41ммоль) і гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (880мг, 1,69ммоль) розчиняли в 5мл хлористого метилену. До розчину додавали сполуку Ivi (530мг, 2,12ммоль)

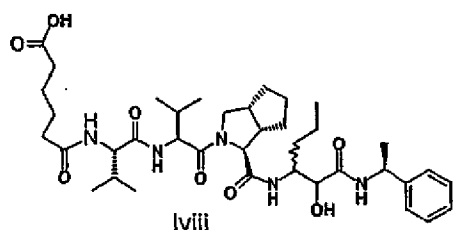


а потім діізопропілетиламін (0,31мл). Суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі, розбавляли етилацетатом до об'єму 100мл і промивали 1н. хлористоводневою кислотою, бікарбонатом натрію і розсолем. Очищали флеш-хроматографією на колонці (елюент 100%-ний етилацетат). Одержано 870мг (80%) сполуки Ivii



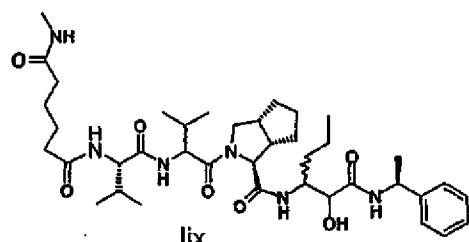
Приклад проміжного продукту 53. Сполука Iviii

Сполуку Ivii (350мг, 0,45ммоль) розчиняли в 5мл трифтороцтової кислоти і 5мл хлористого метилену. Суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом 3год. Видаляли розчинник випаровуванням, а продукт очищали РХВЕ-ОФ. Одержано 220мг (69%) сполуки Iviii



Приклад проміжного продукту 54. Сполука Iix

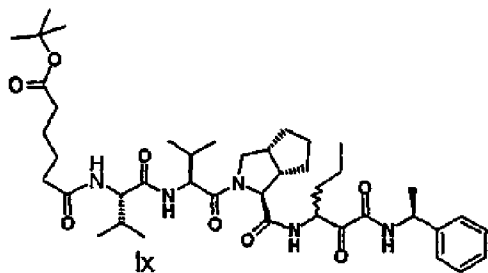
Сполуку Iviii (200мг, 0,28ммоль) і гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (218мг, 0,42ммоль) розчиняли в 5мл хлористого метилену і додавали 0,28мл 2М розчину метиламіну в тетрагідрофурані. Суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі. Розбавляли суміш етилацетатом до об'єму 100мл і промивали 1н. хлористоводневою кислотою, бікарбонатом натрію і розсолем. Залишок очищали хроматографією на колонці (елюент 15% етанолу в етилацетаті). Одержано 168мг (79%) сполуки Iix



Приклад проміжного продукту 55. Сполука Ix

Сполуку Iix (200мг, 0,26ммоль) розчиняли в 4мл хлористого метилену і додавали 165мг (0,39ммоль) йодного реактиву Десса-Мартіна. Реакційну суміш перемішували протягом 3год при приблизно кімнатній

температурі. Розчинник видаляли випаровуванням. Залишок розчиняли в суміші ацетонітрилу з водою (50:50) і очищали продукт РХВЕ-ОФ. Одержано 140мг (70%) сполуки Іх

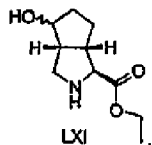


Приклад проміжного продукту 56. Сполука Іі

Розчин сполуки І (4г, 12,1ммоль) в хлористому метилені (30мл) і етанолі (30мл) охолоджували до -10°C в атмосфері азоту. Додавали до розчину боргідрид натрію (458мг, 12,1ммоль) і перемішували при -10°C протягом 50хв. Хроматографія в тонкому шарі (силікагель, елюент 50% етилацетату з гексаном) посвідчила повне перетворення у продукт з меншою швидкістю елюювання. Реакцію обережно гасили додаванням льоду, а потім охолодженого насиченого розчину хлориду амонію (10мл). Виливали суміш у хлористий метилен (300мл). Органічний шар промивали один раз насиченим розчином хлориду амонію (60мл) і двічі розсолем (60мл). Відділяли органічний шар, сушили над сульфатом магнію і концентрували у вакуумі. Одержано 3,5г сполуки Іі (87%).

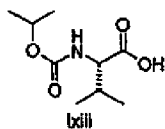
Приклад проміжного продукту 57. Сполука Іхі

У круглодонній колбі місткістю 250мл, обладнаною еластичною камерою з воднем, розчин сполуки Іі (3,5г, 10,5ммоль) в етанолі (50мл) піддавали гідруванню в стандартних умовах (20% гідроксиду паладію на вугіллі, 1,47г, 2,1ммоль) протягом 5год при приблизно кімнатній температурі. Відділяли каталізатор фільтруванням через целіт і промивали целіт хлористим метиленом. Видаляли розчинник під зниженим тиском. Одержано 2г (96%) сполуки Іхі

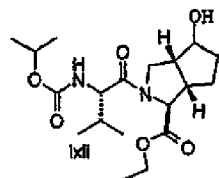


Приклад проміжного продукту 58. Сполука Іхіі

Розчин сполуки Іхі (200мг, 1ммоль), сполуки Іхііі

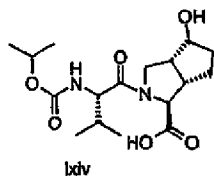


(233мг, 1,1ммоль) і 1-гідрокси-7-азабензотриазолу (156мг, 1,15ммоль) в безводному диметилформаміді (6мл) перемішували в інертній атмосфері протягом 20хв. Потім знижували температуру до 0°C і додавали 1,3-діізопропілкарбодіімід (0,18мл, 1,15ммоль). Перемішували суміш при приблизно кімнатній температурі протягом ночі. Розбавляли суміш етилацетатом, промивали двічі 1н. хлористоводневою кислотою, двічі насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Відділяли органічний шар, сушили над сульфатом магнію і видаляли розчинник під зниженим тиском. Залишок очищали хроматографією (силікагель, елюент 70% етилацетату із хлористим метиленом). Одержано сполуку Іхіі з виходом 45%.



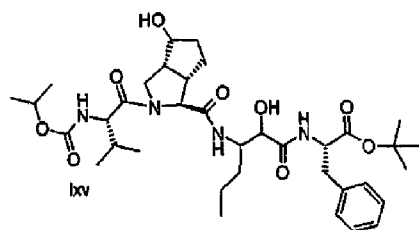
Приклад проміжного продукту 59. Сполука Іхіv

Розчин сполуки Іхіі (777мг, 2ммоль) в діоксані (6мл) і 0,5М розчин гідроксиду натрію (6мл) перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом 5год. Контроль хроматографією в тонкому шарі (елюент 100%-ний етилацетат) посвідчив повне перетворення у продукт первинного походження. Реакційну суміш охолоджували в бані з льодом, після чого додавали 1н. хлористоводневу кислоту (4мл). Потім додавали твердий хлорид натрію і всю суміш екстрагували етилацетатом (двічі по 150мл). Об'єднували органічні екстракти, сушили над сульфатом магнію і видаляли розчинник під зниженим тиском. Одержано сполуку Іхіv з виходом 92%.



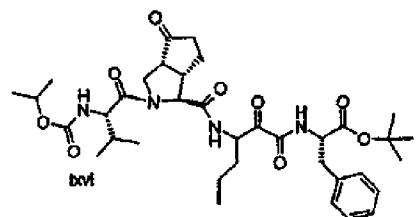
Приклад проміжного продукту 60. Сполука lxv

Розчин сполуки x (203мг, 0,58ммоль), сполуки lxiv (276мг, 0,775ммоль) і 1-гідрокси-7-азабензотриазолу (126мг, 0,93ммоль) в безводному диметилформаміді (6мл) перемішували в інертній атмосфері протягом 20хв. Потім знижували температуру до 0°C і додавали 1,3-діізопропілкарбодіїмід (0,14мл, 0,93ммоль). Перемішували суміш при приблизно кімнатній температурі протягом ночі. Розбавляли суміш етилацетатом, промивали двічі 1н. хлористоводневою кислотою, двічі насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Відділяли органічний шар, сушили над сульфатом магнію і видаляли розчинник під зниженим тиском. Залишок очищали хроматографією (силікагель, градієнт складу елюенту від 50% етилацетату із хлористим метиленом до суміші етилацетату із хлористим метиленом і метанолом, 80:19:1). Одержано сполуку lxv із виходом 62%.



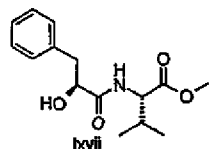
Приклад проміжного продукту 61. Сполука lxvi

До розчину сполуки lxv (287мг, 0,42ммоль) в безводному хлористому метилені (15мл) додавали в інертній атмосфері йодний реактив Десса-Мартіна (605мг, 1,43ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 2год при приблизно кімнатній температурі. (Примітка: подвійна кількість реактиву Десса-Мартіна необхідна для забезпечення повного окиснення обох спиртових груп до відповідних кетогруп). Контроль хроматографією в тонкому шарі (силікагель, елюент 2% метанолу в етилацетаті) посвідчив повне перетворення у продукт із більшою швидкістю елюювання. Реакційну суміш розбавляли хлористим метиленом (150мл), промивали 10%-ним водним розчином сульфату натрію (двічі по 50мл), двічі насиченим водним розчином бікарбонату натрію і розсолем. Органічний шар відділяли, сушили над сульфатом магнію і видаляли розчинник під зниженим тиском. Залишок очищали хроматографією (силікагель, градієнт складу елюенту від 50% етилацетату із хлористим метиленом до суміші етилацетату із хлористим метиленом і метанолом, 80:19:1). Одержано сполуку lxvi із виходом 77%.



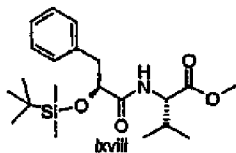
Приклад проміжного продукту 62. Сполука lxvii

До розчину L-3-фенілмолочної кислоти (2г, 12ммоль) в хлористому метилені (60мл) додавали гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (7,5г, 14,4ммоль). До цього розчину додавали розчин гідрохлориду метилового ефіру L-валіну (2,4г, 14,4ммоль) в хлористому метилені (20мл) і діізопропілетиламін (2,6мл, 14,4ммоль). Суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі. Потім реакційну суміш розбавляли етилацетатом (30мл), промивали бікарбонатом натрію (30мл) і розсолем (15мл). Органічний шар сушили над сульфатом натрію, фільтрували і концентрували. Очищали на силікагелі з використанням 50% етилацетату з гексаном. Одержано 2,97г (89%) сполуки lxvii



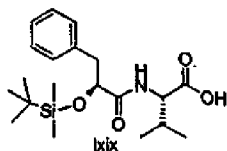
Приклад проміжного продукту 63. Сполука lxviii

Сполуку lxvii (2,97г, 10,6ммоль) розчиняли в хлористому метилені (50мл) і охолоджували в бані з льодом. До цього розчину додавали трет-бутиддиметилхлорсилан (2,1г, 13,8ммоль), а потім імідазол (0,94г, 13,8ммоль). Одержаний розчин перемішували протягом ночі. Розбавляли суміш етилацетатом (50мл), промивали бікарбонатом натрію і розсолем. Органічний шар сушили над сульфатом натрію, фільтрували і концентрували. Очищали на силікагелі з використанням 20% етилацетату з гексаном. Одержано 3,79г (90%) сполуки lxviii



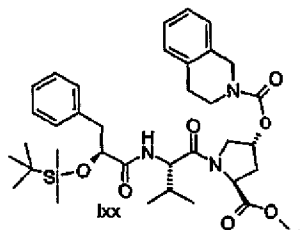
Приклад проміжного продукту 64. Сполука Ixix

До розчину сполуки Ixviii (3,78г, 9,6ммоль) в метанолі (50мл) додавали 1н. водний розчин гідроксиду натрію (14,4мл, 14,4ммоль). Суміш перемішували протягом ночі. Розчинник частково видаляли у вакуумі. Потім знижували pH реакційної суміші до 3, використовуючи 1н. хлористоводневу кислоту. Розбавляли розчин етилацетатом і розсолем. Цільовий продукт екстрагували етилацетатом (тричі по 50мл). Об'єднані органічні шари сушили над сульфатом натрію, фільтрували і концентрували. Одержано 3,5г (96%) сполуки Ixix



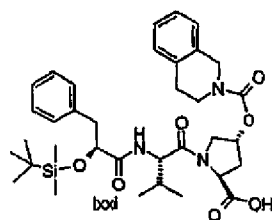
Приклад проміжного продукту 65. Сполука Ixx

До розчину сполуки Ixix (1,1г, 2,9ммоль) в хлористому метилені (15мл) додавали 1-гідрокси-7-азабензотриазол (0,44г, 3,2ммоль), а потім 1М розчин дициклокарбодііміду в хлористому метилені (3,2мл, 3,2ммоль). Після перемішування при приблизно кімнатній температурі протягом 20хв додавали розчин сполуки xxxix (970мг, 3,2ммоль) в хлористому метилені (15мл). Перемішували суміш протягом ночі в атмосфері азоту. Потім суміш розбавляли етилацетатом (30мл), фільтрували через шар силікагелю, промивали 0,1н. хлористоводневою кислоту, розчином бікарбонату натрію і розсолем. Відділяли органічний шар, сушили над сульфатом натрію і концентрували у вакуумі. Очищали на силікагелі з використанням 50% етилацетату з гексаном. Одержано 1,5г (77%) сполуки Ixx



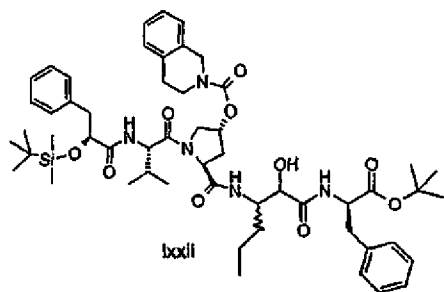
Приклад проміжного продукту 66. Сполука Ixxi

До розчину сполуки Ixx (1,5г, 2,4ммоль) в метанолі (30мл) додавали 1н. водний розчин гідроксиду натрію (3,6мл, 3,6ммоль). Суміш перемішували протягом ночі. Потім розчинник частково видаляли, знижували pH реакційної суміші до 3, використовуючи 1н. хлористоводневу кислоту. Розбавляли розчин етилацетатом (50мл) і розсолем (20мл). Водний шар екстрагували етилацетатом (тричі по 50мл). Об'єднані органічні шари сушили над сульфатом натрію, фільтрували і концентрували. Одержано 1,3г (92%) сполуки Ixxi



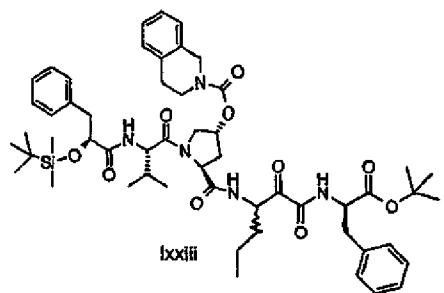
Приклад проміжного продукту 67. Сполука Ixxii

До розчину сполуки Ixxi (180мг, 0,28ммоль) в хлористому метилені (2мл) додавали гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (175мг, 0,34ммоль) і діізопропілетиламін (0,06мл, 0,34ммоль), а потім розчин сполуки x (150мг, 0,41ммоль) в хлористому метилені (3мл). Суміш перемішували протягом ночі в атмосфері азоту. Потім реакційну суміш розбавляли етилацетатом (30мл), промивали бікарбонатом натрію і розсолем. Органічний шар сушили над сульфатом натрію, фільтрували і концентрували. Очищали на силікагелі з використанням 100%-ного етилацетату. Одержано 270мг (98%) сполуки Ixxii



Приклад проміжного продукту 68. Сполука Lxxii

До розчину сполуки Lxxii (270мг, 0,27ммоль) в хлористому метилені (3мл) додавали йодний реактив Десса-Мартіна (140мг, 0,33ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 1,5год при приблизно кімнатній температурі, а потім гасили реакцію додаванням 10%-ного розчину сульфату натрію (10мл). Реакційну суміш розбавляли етилацетатом (30мл) і перемішували протягом 10хв. Органічний шар промивали розчином бікарбонату натрію і розсоллом, сушили над сульфатом натрію, фільтрували і концентрували. Очищали з використанням 60% етилацетату з гексаном. Одержано 150мг (56%) сполуки Lxxiii

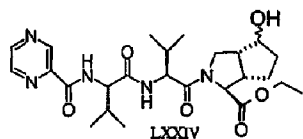


Приклад проміжного продукту 69. Сполука Lxi

До розчину сполуки ii (3,5г, 10,5ммоль) в етанолі (50мл) додавали в потоці азоту гідроксид паладію на вугіллі (1,47г, 20% паладію, 2,1ммоль). Реакційну суміш гідрували при тиску водню 1атм (101,3кПа). Після завершення реакції каталізатор відділяли фільтруванням через шар целіту і промивали целіт хлористим метиленом. Фільтрат концентрували у вакуумі. Одержано 2г (96%) сполуки Lxi.

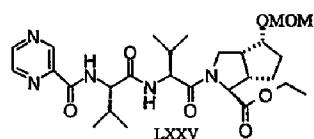
Приклад проміжного продукту 70. Сполука Lxxiv

До розчину сполуки vii (9,1г, 28,2ммоль) в диметилформаміді (60мл) додавали 1-гідрокси-7-азабензотриазол (4г, 29,4ммоль) і 1,3-діізопропіл-карбодіімід (3,7г, 29,4ммоль). Після перемішування при приблизно кімнатній температурі протягом 30хв додавали розчин сполуки Lxi (5,1г, 25,6ммоль) в диметилформаміді (10мл). Перемішували суміш протягом ночі при приблизно кімнатній температурі. Потім відділяли фільтруванням білий твердий осад. Фільтрат концентрували у вакуумі, а залишок очищали хроматографією на силікагелі. Одержано 9,5г (67%) сполуки Lxxiv



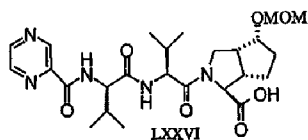
Приклад проміжного продукту 71. Сполука Lxxv

До розчину сполуки Lxxiv (1,5г, 3ммоль) в безводному тетрагідрофурані (25мл) додавали при приблизно кімнатній температурі діізопропілетиламід (0,78мл, 4,5ммоль), Охолоджували суміш до 0°C і додавали краплі за краплею метоксиметилхлорид (1,5мл, 19,7ммоль). Давали суміші нагрітисся до кімнатної температури і перемішували протягом ночі. Потім розбавляли суміш діетиловим ефіром і тричі промивали водою. Водні шари додатково екстрагували ефіром, і всі органічні фази сушили над сульфатом магнію і концентрували, одержуючи масло жовтого кольору. Цільовий ізомер сполуки Lxxv виділяли хроматографією на силікагелі (елюент етилацетат із гексаном, 5:2) з виходом 40% при чіткому розділенні діастереомерів.



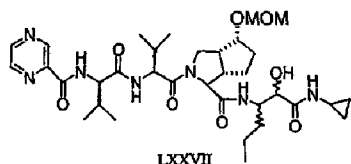
Приклад проміжного продукту 72. Сполука Lxxvi

До розчину сполуки Lxxv (502мг, 0,9ммоль) в етанолі (5мл) додавали краплі за краплею при температурі 0°C 2н. водний розчин гідроксиду натрію (0,9мл, 1,8ммоль). Давали суміші нагрітисся до кімнатної температури і перемішували протягом ночі. Після завершення омилення розчин підкислювали до pH 3, застосовуючи кислотну смолу Dowex 50W8X-200. Відділяли тверду фазу фільтруванням і концентрували фільтрат у вакуумі, одержуючи маслянистий залишок, який ліофілізували. Одержано 370мг (80%) сполуки Lxxvi



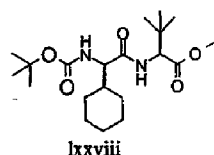
Приклад проміжного продукту 73. Сполука lxxvii

Розчин сполуки lxxvi (110мг, 0,21ммоль) в хлористому метилені (4мл) обробляли гексафторфосфатом бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (200мг, 0,38ммоль). Після перемішування при приблизно кімнатній температурі протягом 30хв до реакційної суміші додавали розчин сполуки xiii (60мг, 0,32ммоль) в тетрагідрофурани (3,2мл), а потім діізопропілетиламін. Після перемішування протягом ночі при приблизно кімнатній температурі реакцію гасили водою і екстрагували суміш етилацетатом. Органічний шар промивали розсолон і сушили над сульфатом магнію, після чого концентрували, одержуючи масло жовтого кольору. Після очищення хроматографією на силікагелі (елюент 5% етанолу в етилацетаті) одержано 143мг (100%) сполуки lxxvii



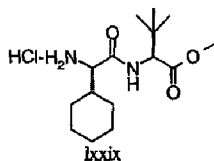
Приклад проміжного продукту 74. Сполука lxxviii

До розчину хірального фенілгліцину (H-Chg-OH 2) (г, 19,4ммоль) в тетрагідрофурани (50мл) додавали 1-гідрокси-7-азабензотриазол (2,63г, 19,4ммоль) і гідрохлорид 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодііміду (3,72г, 19,4ммоль). Після перемішування при кімнатній температурі протягом 20хв до цієї суміші додавали розчин гідрохлориду метилового ефіру трет-L-лейцину (19,4ммоль) і діізопропілетиламіну (6,75мл, 38,8ммоль) в тетрагідрофурани (19мл) і диметилформаміді (10мл). Реакційну суміш перемішували протягом ночі прии (приблизно кімнатній температурі). Після стандартного оброблення водою і хроматографування на силікагелі (елюент 15-20% етилацетату в гексані) одержано 2,27г (30%) сполуки lxxviii



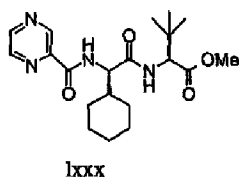
Приклад проміжного продукту 75. Сполука lxxix

До розчину сполуки lxxviii (2,27г, 5,91ммоль) в тетрагідрофурани (12мл) додавали 4н. розчин хлороводню в діоксані (7,38мл, 29,5ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом ночі при приблизно кімнатній температурі. Потім видаляли розчинник під зниженим тиском. Одержану сполуку lxxix безпосередньо використовували для подальшого синтезу.



Приклад проміжного продукту 76. Сполука lxxx

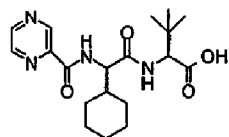
До розчину сполуки lxxix (5,9ммоль) в тетрагідрофурани додавали розчин 2-піразинкарбонової кислоти (878мг, 7,08ммоль), 1-гідрокси-7-азабензотриазолу (957мг, 7,08ммоль) і гідрохлориду 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодііміду (1,36г, 7,08ммоль) в тетрагідрофурани (20мл). До одержаної суміші потім додавали діізопропілетиламін (2,05мл, 11,8ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом ночі при приблизно кімнатній температурі, а потім гасили водою. Екстрагували реакційну суміш етилацетатом. Органічний шар промивали розсолон і концентрували у вакуумі, одержуючи залишок, який очищали хроматографією на силікагелі (елюент 40-50% етилацетату з гексаном). Одержано 1г (36%) сполуки lxxx



Приклад проміжного продукту 77. Сполука lxxxi

До розчину сполуки lxxx (1г, 2,56ммоль) в метанолі (20мл) додавали 2н. водний розчин гідроксиду натрію (3,2мл, 6,4ммоль). Суміш перемішували при приблизно кімнатній температурі протягом ночі. Після завершення омилення суміш підкислювали до pH 3, застосовуючи 5н. хлористоводневу кислоту. Реакційну суміш розбавляли етилацетатом (75мл), промивали водою і розсолон. Органічний шар сушили і

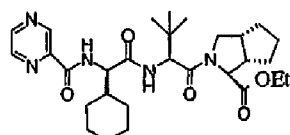
концентрували у вакуумі, одержуючи залишок, який розчиняли в суміші ацетонітрилу з водою (1:1) і ліофілізували. Одержано приблизно 1г (100%) сполуки lxxxі



lxxxі

Приклад проміжного продукту 78. Сполука lxxxіі

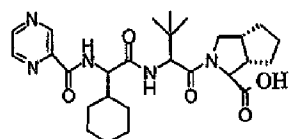
Розчин сполуки lxxxі (2,56ммоль) в хлористому метилені (10мл) обробляли 1-гідрокси-7-азабензотриазолом (348мг, 2,56ммоль) і дициклокарбодіімідом (1М розчин, 2,56мл, 2,56ммоль). Після перемішування протягом 30хв до реакційної суміші додавали розчин сполуки v (2,56ммоль) в тетрагідрофурані (5мл). Після перемішування при приблизно кімнатній температурі протягом ночі відділяли фільтруванням білий твердий осад (сечовину). Фільтрат концентрували у вакуумі, а залишок очищали хроматографією на силікагелі. Одержано 1,4г (100%) сполуки lxxxіі



lxxxіі

Приклад проміжного продукту 79. Сполука lxxxііі

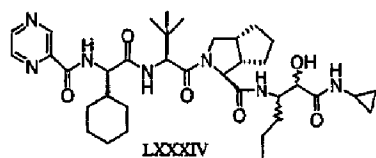
До розчину сполуки lxxxіі (1,4г, 2,58ммоль) в етанолі (15мл) додавали 2н. водний розчин гідроксиду натрію (2,58мл, 5,17ммоль). Після перемішування при приблизно кімнатній температурі протягом ночі реакційну суміш підкислювали до рН 3, застосовуючи кислотну смолу. Тверду фазу відділяли фільтруванням. Фільтрат концентрували у вакуумі, одержуючи залишок, який ліофілізували. Одержано 1,32г (приблизно 100%) сполуки lxxxііі



lxxxііі

Приклад проміжного продукту 80. Сполука lxxxіv

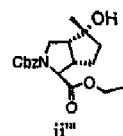
Розчин сполуки lxxxііі (360мг, 0,7ммоль) в хлористому метилені (15мл) обробляли гексафторфосфатом бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (582мг, 1,12ммоль). Після перемішування при приблизно кімнатній температурі протягом 20хв до реакційної суміші додавали розчин сполуки хііі (195,6мг, 1,05ммоль) в тетрагідрофурані (10мл), а потім діізопропілетиламін (0,25мл, 1,40ммоль). Після перемішування протягом ночі при приблизно кімнатній температурі реакцію гасили водою і екстрагували суміш етилацетатом. Одержаний органічний шар промивали розсоллом, сушили і концентрували, одержуючи залишок, який очищали хроматографією на силікагелі (елюент 3% етанолу в етилацетаті). Одержано 420мг (88%) сполуки lxxxіv



lxxxіv

Приклад проміжного продукту 81. Сполука іі'''

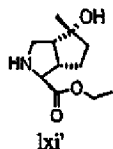
Суміш безводного хлористого метилену і діетилового ефіру (20мл:20мл) охолоджували до -78°C в атмосфері азоту (газу). До суміші додавали послідовно чотирихлористий титан (1М розчин в хлористому метилені, 10мл, 10ммоль), а потім метилат літію (1,4М розчин в ефірі, 7,1ммоль, 10ммоль) при перемішуванні при -78°C на протязі 30хв. До одержаної суміші додавали крапля за краплею на протязі 15хв при тій же температурі розчин сполуки і (2г, 6ммоль) в 10мл хлористого метилену. Суміш повільно нагрівали до -40°C протягом 10хв, а потім перемішували протягом 2год при 0°C. Гасили реакцію шляхом виливання суміші в суміш води з діетиловим ефіром (1:1) і відстоювали для розділення шарів. Водний шар додатково двічі екстрагували ефіром. Об'єднані органічні шари промивали водою і розсоллом, сушили над сульфатом магнію і концентрували, одержуючи масло жовтого кольору. Цільову сполуку іі''' виділяли хроматографією на силікагелі (елюент суміш етилацетату з гексаном, 2:1) з виходом 83%



іі'''

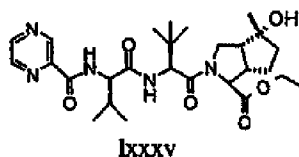
Приклад проміжного продукту 82. Сполука Ixi'

До сполуки ii''' (1,7г, 5ммоль) додавали 10%-ний паладій на вугіллі (0,53г, 0,5ммоль), а потім метанол (17мл). Продували реакційну суміш газоподібним воднем і підтримували тиск водню над сумішшю 1атм (101,3кПа) протягом ночі. Реакційну суміш потім фільтрували і концентрували. Одержано 929мг (87%) сполуки Ixi' у вигляді безбарвного масла.



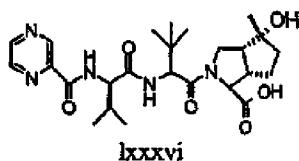
Приклад проміжного продукту 83. Сполука Ixxxv

До розчину сполуки xxii (1г, 3ммоль) в тетрагідрофурані (16мл) додавали при приблизно кімнатній температурі 1-гідрокси-7-азабензотриазол (0,41г, 3ммоль), а потім 1М розчин дициклокарбодіміду в хлористому метилені (3мл, 3ммоль). Після перемішування протягом 30хв при приблизно кімнатній температурі до вищезгаданої активованої 1-гідрокси-7-азабензотриазолом кислоти додавали розчин сполуки Ixi' в хлористому метилені (6мл). Перемішували суміш при приблизно кімнатній температурі протягом ночі, а потім фільтрували через шар целіту. Фільтрат розбавляли етилацетатом (120мл), промивали водою і розсоллом. Органічний шар сушили і концентрували у вакуумі, одержуючи масло жовтого кольору, яке очищали хроматографією на силікагелі (елюент 100%-ний етилацетат). Одержано 1г (65%) сполуки Ixxxv



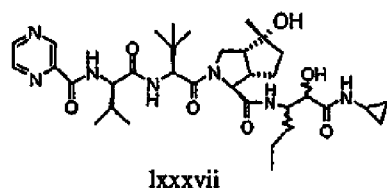
Приклад проміжного продукту 84. Сполука Ixxxvi

До розчину сполуки Ixxxv (920мг, 1,7ммоль) в етанолі (8мл) додавали 2н. водний розчин гідроксиду натрію (1,7мл, 3,4ммоль). Після перемішування при приблизно кімнатній температурі протягом ночі реакційну суміш підкислювали до pH 3, застосовуючи кислотну смолу "Дауекс". Тверду фазу відділяли фільтруванням. Фільтрат концентрували у вакуумі, одержуючи безбарвне масло, яке розчиняли в суміші ацетонітрилу з водою (1:1) і ліофілізували. Одержано 800мг (93%) сполуки Ixxxvi. РХВЕ показала один пік продукту.



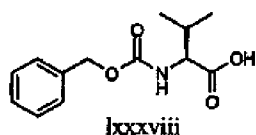
Приклад проміжного продукту 85. Сполука Ixxxvii

До розчину сполуки Ixxxvi (150мг, 0,3ммоль) в хлористому метилені (4мл) додавали гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (250мг, 0,47ммоль). Перемішували суміш при приблизно кімнатній температурі протягом 30хв. Додавали до реакційної суміші розчин сполуки xiii (84мг, 0,45ммоль) в тетрагідрофурані (4,5мл), а потім діізопропілетиламін (0,1мл, 0,6ммоль). Після перемішування протягом ночі при приблизно кімнатній температурі реакцію гасили водою (25мл) і витримували 30хв. Потім екстрагували суміш етилацетатом. Органічний шар промивали розсоллом, сушили над сульфатом магнію і концентрували, одержуючи масло жовтого кольору. Після очищення хроматографією на силікагелі (елюент 5% етанолу в етилацетаті) одержано 200мг (100%) сполуки Ixxxvii

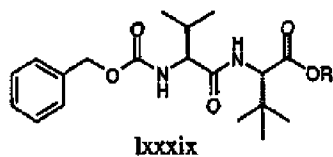


Приклад проміжного продукту 86. Сполука Ixxxix

Сполуку Ixxxviii, N-Cbz-L-валін (2,5г, 9,9ммоль)

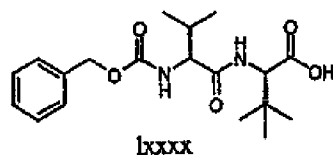


розчиняли в тетрагідрофурані (30мл). Додавали гідрохлорид 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіміду (2,29г, 11,9ммоль) і 1-гідрокси-бензотриазол (1,62г, 11,9ммоль) і перемішували протягом 5хв. Додавали розчин гідрохлориду метилового ефіру L-трет-лейцину (2,17г, 11,9ммоль) в тетрагідрофурані (23,9мл), а потім діізопропілетиламін (2,1мл). Реакційну суміш перемішували протягом ночі в атмосфері азоту. Розбавляли суміш етилацетатом, промивали 1н. хлористоводневою кислотою, насиченим розчином букарбонату натрію і розсолем. Органічну фазу сушили над сульфатом натрію, фільтрували і концентрували. Концентрований залишок очищали з використанням 25% етилацетату в гексані. Одержано 1,1г (29%) сполуки Ixxxix



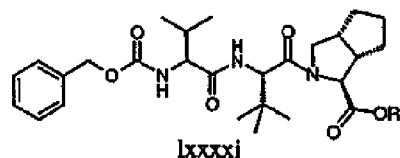
Приклад проміжного продукту 87. Сполука Ixxxx

Сполуку Ixxxix гідролізували в стандартних умовах із використанням метилового спирту (0,3М) і 1н. розчину гідроксиду натрію (1,5екв.). Одержано 1,03г (95%) сполуки Ixxxx



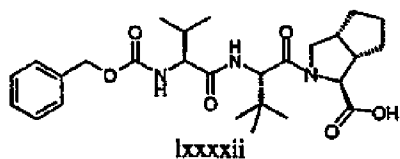
Приклад проміжного продукту 88. Сполука Ixxxxi

Сполуку Ixxxx (385мг, 1,06ммоль) розчиняли в хлористому метилені (3мл). Додавали дициклокарбодіімід (1,4ммоль), а потім 1-гідрокси-7-азабензотриазол (190мг, 1,4ммоль). Додавали розчин сполуки v (260мг, 1,4ммоль) в хлористому метилені (3мл). Реакційну суміш перемішували протягом ночі в атмосфері азоту. Розбавляли суміш етилацетатом, фільтрували через шар силікагелю і концентрували. Залишок очищали з використанням 50% етилацетату з гексаном. Одержано 440мг (80%) сполуки Ixxxxi



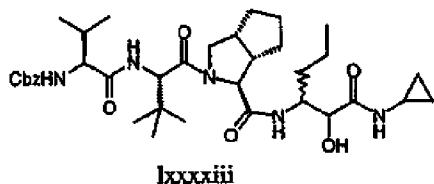
Приклад проміжного продукту 89. Сполука Ixxxxii

Сполуку Ixxxxi гідролізували в стандартних умовах із використанням метилового спирту (0,3М) і 1н. розчину гідроксиду натрію (1,5екв.). Одержано 390мг сполуки Ixxxxii



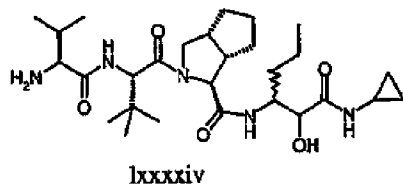
Приклад проміжного продукту 90. Сполука Ixxxxiii

Сполуку Ixxxxii (350мг, 0,7ммоль) розчиняли в хлористому метилені (3мл). Додавали гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (480мг, 0,91ммоль), потім сполуку xiii (170мг, 0,91ммоль), а потім діізопропілетиламін (0,16мл, 0,91ммоль). Реакційну масу перемішували протягом ночі, концентрували і очищали з використанням 100%-ного етилацетату. Одержано 420мг (90%) сполуки Ixxxxiii



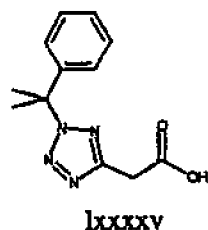
Приклад проміжного продукту 91. Сполука Ixxxxiv

Сполуку Ixxxxiii гідрували з використанням 10%-ного паладію на вугіллі (1% мол.) в атмосфері водню. Одержано 335мг (100%) сполуки Ixxxxiv



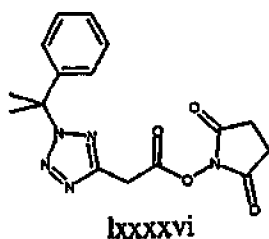
Приклад проміжного продукту 92. Сполука lxxxxv

Етил-1Н-тетразол-5-ацетат (5г, 32ммоль) розчиняли в хлороформі (80мл). Додавали трихлороцтову кислоту (12,03г, 73,65ммоль), а потім альфа-метилстирол (3,78г, 32ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом ночі. Наступного дня суміш розбавляли етилацетатом, промивали 10%-ним розчином гідроксиду калію і розсолем. Органічну фазу сушили над сульфатом магнію, фільтрували і концентрували. Одержано 8г (96%) відповідного етилтетразол-5-ацетату із групою захисту при N. Цю речовину гідролізували в стандартних умовах із використанням етилового спирту (0,3М) і 1н. розчину гідроксиду натрію (3екв.). Одержано 7г (99%) сполуки lxxxxv



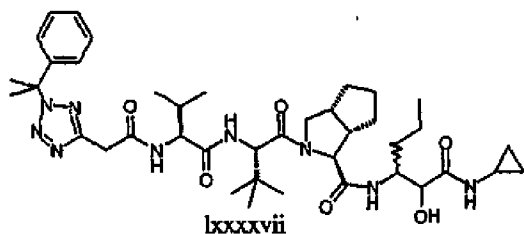
Приклад проміжного продукту 93. Сполука lxxxxvi

Сполуку lxxxxv (3,62г, 14,7ммоль) розчиняли в хлористому метилені (50мл). Додавали гідрохлорид 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіїміду (4,32г, 22,1ммоль) і діізопропілетиламін (5,1мл, 29,4ммоль) і перемішували протягом 5хв. Додавали N-гідроксисукцинімід (3,38г, 29,4ммоль) і перемішували протягом 3год. Розбавляли реакційну суміш хлористим метиленом і тричі промивали водою. Органічну фазу сушили над сульфатом натрію, фільтрували і концентрували. Одержано 3,66г (73%) сполуки lxxxxvi



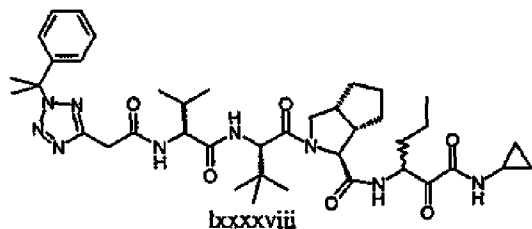
Приклад проміжного продукту 94. Сполука lxxxxvii

Сполуку lxxxxiv (335мг, 0,62ммоль) і сполуку lxxxxvi (343мг, 1ммоль) розчиняли в хлористому метилені (6мл). Додавали діізопропілетиламін (0,17мл, 1ммоль) і перемішували протягом ночі. Реакційну суміш розбавляли етилацетатом, промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем і концентрували. Залишок очищали з використанням 5% етанолу в етилацетаті. Одержано 80мг (16%) сполуки lxxxxvii



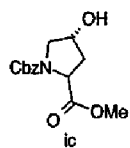
Приклад проміжного продукту 95. Сполука lxxxxviii

Сполуку lxxxxvii (80мг, 0,11ммоль) розчиняли в хлористому метилені (3мл). Додавали йодний реактив Десса-Мартіна (55мг, 0,13ммоль) і перемішували протягом 1год. Розбавляли реакційну суміш етилацетатом і гасили 10%-ним розчином сульфату натрію. Органічну фазу промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Концентрували органічну фазу і залишок очищали з використанням 100%-ного етилацетату. Одержано 40мг (48%) сполуки lxxxxviii

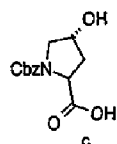


Приклад проміжного продукту 96. Сполука xxxix

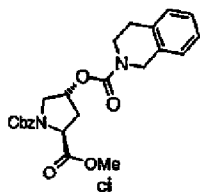
Сполуку ic, метиловий ефір N-Cbz-4-гідроксипроліну (2,1г, 7,9ммоль,



одержану з кількісним виходом із сполуки c, N-Cbz-4-гідроксипроліну)



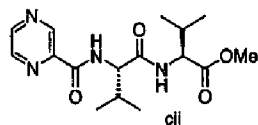
розчиняли в хлористому метилені (25мл). Додавали до розчину CDI (карбонілдіімідазол) (1,54г, 9,5ммоль) і діізопропілетиламін (1,7мл, 9,5ммоль) і перемішували 10хв. До реакційної суміші додавали крапля за краплею 1,2,3,4-тетрагідроізохінолін (TIQ) (1,2мл, 9,5ммоль) і перемішували протягом 5год. Органічну фазу промивали водою, 1н. хлористоводневою кислотою і розсолем. Залишок після концентрування органічної фази очищали хроматографією з елюванням 40% етилацетату в гексані. Одержано сполуку ci, метиловий складний ефір N-Cbz-4-TIQ-карбонілоксипроліну (2,5г, 75%).



Сполуку ci (2,5г, 5,9ммоль) розчиняли в метанолі (75мл). Продували розчин азотом і додавали паладій на вугіллі (10%, 300мг). Продували реакційну суміш воднем і перемішували протягом ночі. Фільтрували суміш через шар целіту і концентрували. Одержано сполуку xxxix, метиловий складний ефір 4-(TIQ-карбонілокси)-проліну (1,49г, 83%).

Приклад проміжного продукту 97. Сполука vii

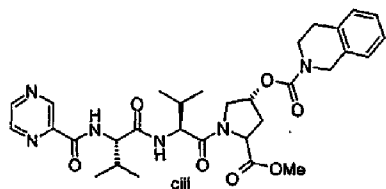
Сполуку cii, метиловий складний ефір N-піразин-2-ілкарбоніл-Val-валіну



(10,9г, 32,4ммоль) розчиняли в тетрагідрофурані (80мл) і додавали водний розчин гідроксиду натрію (48,6мл, 48,6ммоль). Одержану суміш перемішували протягом 48год, потім додавали додаткову кількість гідроксиду натрію (16,3мл, 16,3ммоль) і нагрівали суміш при 40°C протягом 3год. Доводили рН реакційної суміші до 3, екстрагували водну фазу етилацетатом і концентрували, одержуючи неочищену сполуку vii, вільну кислоту N-піразин-2-ілкарбоніл-Val-валін (10,6г, 100%).

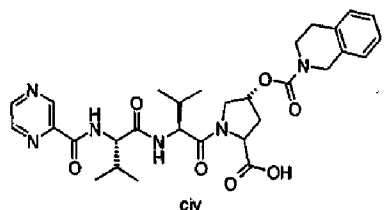
Приклад проміжного продукту 98. Сполука ciii

Сполуку cii (4,1г, 12,7ммоль) розчиняли в хлористому метилені (20мл). Додавали до розчину 1-гідрокси-7-азабензотриазол (1,73г, 12,7ммоль) і дициклокарбодіімід (12,7ммоль) і перемішували протягом 1год. Додавали до реакційної суміші розчин сполуки xxxix (3,22г, 10,6ммоль) в хлористому метилені (10мл). Одержану суміш перемішували протягом ночі в атмосфері азоту. Суміш фільтрували через шар силікагелю і концентрували. Залишок очищали хроматографією на силікагелі з використанням градієнтного елюенту (від 50% до 80% етилацетату з гексаном). Одержано сполуку ciii, метиловий складний ефір N-піразин-2-ілкарбоніл-Val-Val-4-(TIQ-карбонілокси)проліну (5,27г, 81,7%).



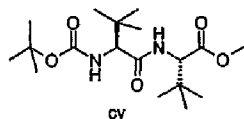
Приклад проміжного продукту 99. Сполука civ

Сполуку ciii (650мг, 1,29ммоль) розчиняли в тетрагідрофурані (5мл). Додавали водний розчин гідроксиду натрію (1,42мл, 1,42ммоль) і перемішували протягом ночі. Доводили рН розчину до 3, відділяли органічну фазу і концентрували, одержуючи залишок. Цей залишок очищали РХВЕ з оберненою фазою з елюванням сумішшю ацетонітрилу з водою. Одержано сполуку civ, N-піразин-2-ілкарбоніл-Val-Val-4-(TIQ-карбонілокси)пролін (600мг, 95%).



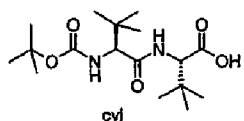
Приклад проміжного продукту 100. Сполука cv

N-Вос-*L*-трет-лейцин (2,3г, 10ммоль) і гідрохлорид метилового складного ефіру *L*-трет-лейцину (2г, 11ммоль) розчиняли в диметилформаміді (30мл). Потім до розчину додавали 1-гідрокси-7-азабензотриазол (1,6г, 11,5ммоль). Одержану суміш перемішували 20хв в атмосфері азоту, а потім охолоджували до 0°C і додавали 1,3-діізопропілкарбодіїмід (1,8мл, 11,5ммоль) і 2,4,6-колідин (1,45мл, 11ммоль). Одержаний розчин перемішували протягом ночі з нагріванням до кімнатної температури. Розбавляли суміш етилацетатом, органічну фазу промивали 1н. хлористоводневою кислотою, насиченим розчином бікарбонату натрію і розсоллом. Залишок після концентрування органічної фази очищали хроматографією з елюванням 20-30% етилацетату в гексані. Одержано сполуку cv (3,3г, 92%).



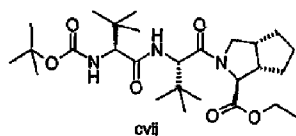
Приклад проміжного продукту 101. Сполука cvi

Сполуку cv (3,3г, 9,2ммоль) гідролізували з використанням діоксану (40мл) і 0,5н. гідроксиду натрію (37мл, 18,4ммоль). Одержано сполуку cvi (2,9г, 92%).



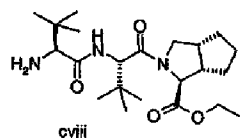
Приклад проміжного продукту 102. Сполука cvii

Сполуку cvi (2г, 5,8ммоль) і сполуку v (1г, 5,5ммоль) розчиняли в диметилформаміді (20мл). Додавали до розчину 1-гідрокси-7-азабензотриазол (832мг, 6,6ммоль) і 1,3-діізопропілкарбодіїмід (1,1мл, 6,6ммоль). Одержану суміш перемішували протягом ночі в атмосфері азоту. Розбавляли суміш етилацетатом, органічну фазу промивали 1н. хлористоводневою кислотою, насиченим розчином бікарбонату натрію і розсоллом. Залишок після концентрування органічної фази очищали хроматографією з елюванням 20-30% етилацетату в гексані. Одержано сполуку cvii (2,4г, 81%).



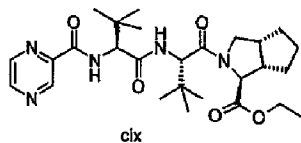
Приклад проміжного продукту 103. Сполука cviii

Сполуку cvii (2,4г, 4,72ммоль) розчиняли в хлористому метилені (10мл). Додавали до розчину трифтороцтову кислоту (10мл). Одержану суміш перемішували протягом 4год. Реакційну суміш концентрували, розчиняли в етилацетаті і промивали органічну фазу 1н. розчином гідроксиду натрію і розсоллом. Органічну фазу концентрували. Одержано сполуку cviii (1,084г, 56,1%).



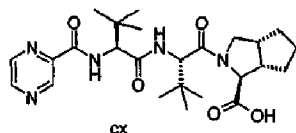
Приклад проміжного продукту 104. Сполука сіх

2-піразинкарбонову кислоту (181мг, 1,46ммоль) і сполуку сviii (541мг, 1,325ммоль) розчиняли в диметилформаміді (15мл). Додавали до розчину 1-гідрокси-7-азабензотриазол (207мг, 1,52ммоль) і 1,3-діізопропілкарбодіїмід (0,24мл, 1,52ммоль). Одержану суміш перемішували протягом ночі в атмосфері азоту. Розбавляли суміш етилацетатом, органічну фазу промивали 1н. хлористоводневою кислотою, насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Залишок після концентрування органічної фази очищали хроматографією із градієнтним елюванням 20%, 30% і 35% етилацетату в гексані. Одержано сполуку сіх (430мг, 63%).



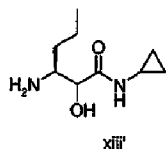
Приклад проміжного продукту 105. Сполука сх

Сполуку сіх гідролізували з використанням етанолу (7мл) і 1н. гідроксиду натрію (4,7мл, 4,7ммоль). Одержано сполуку сх (700мг, 91,6%).

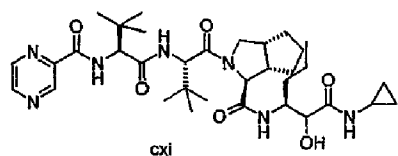


Приклад проміжного продукту 106. Сполука схі

Сполуку сх (690мг, 1,42ммоль) розчиняли в хлористому метилені (9мл). Додавали до розчину гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (890мг, 1,7ммоль), а потім сполуку xiii' (320мг, 1,7ммоль)

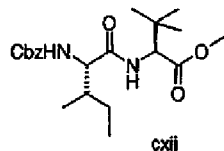


До одержаної суміші додавали діізопропілетиламін (0,3мл, 1,7ммоль). Реакційну масу перемішували протягом ночі в атмосфері азоту. Потім суміш розбавляли етилацетатом, промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Залишок після концентрування органічної фази очищали хроматографією з елюванням 100%-ним етилацетатом. Одержано сполуку схі (490мг, 52,7%).

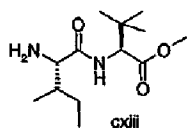


Приклад проміжного продукту 107. Сполука схів

Сполуку схіі (1,2г, 3,06ммоль) розчиняли в метанолі (12мл).



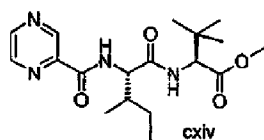
Після ретельного продування азотом додавали 10%-ний гідроксид паладію на вугіллі (0,6г) і гідрували суміш протягом ночі, після чого хроматографія в тонкому шарі (елюент 30% етилацетату в гексані) посвідчила завершення реакції. Розчин відділяли від твердої фази фільтруванням і концентрували. Одержано відповідну сполуку схііі з відщепленою групою захисту у вигляді безбарвного масла (100%)



яку було використано без додаткового очищення.

2-піразинкарбонову кислоту (400мг, 3,2ммоль, 1,1екв.) розчиняли в суміші 4мл хлористого метилену з 4мл тетрагідрофурану і додавали 1-гідрокси-7-азабензотриазол (440мг, 3,2ммоль) і дициклокарбодіїмід (343мл, 1М розчин в хлористому метилені). Після перемішування при кімнатній температурі протягом 20хв

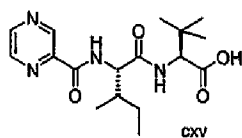
додавали до активованої суміші сполуку схііі, одержану на попередній стадії (0,96г, 3,2ммоль), розчинену в хлористому метилені (6,4мл). Після перемішування при кімнатній температурі протягом ночі реакційну суміш фільтрували через шар целіту і очищали сполуку схів хроматографією на колонці (елюент 30% етилацетату в гексані)



Одержано білу тверду речовину (0,8г, 80%).

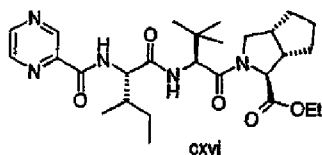
Приклад проміжного продукту 108. Сполука схv

Сполуку схів (0,8г, 2,2ммоль) розчиняли в метанолі (10мл) і додавали 2н. водний розчин гідроксиду натрію (3,3мл, 6,6ммоль). Перемішували суміш протягом ночі при кімнатній температурі, після чого хроматографія в тонкому шарі (елюент 50% етилацетату з гексаном) посвідчила завершення реакції. Підкислювали суміш 5н. хлористоводневою кислотою до рН 3, розбавляли етилацетатом і екстрагували органічну фазу. Органічний екстракт промивали розсолем і сушили над сульфатом магнію. Після концентрування одержано сполуку схv (0,74г, 95%).



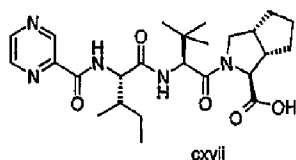
Приклад проміжного продукту 109. Сполука схvi

До розчину сполуки схv (0,74г, 2,1ммоль) в хлористому метилені (6мл) додавали при кімнатній температурі 1-гідрокси-7-азабензотриазол (290мг, 2,1ммоль), а потім 1 М розчин дициклокарбодііміду в хлористому метилені (2,2мл, 2,2ммоль). Після перемішування протягом 30хв при кімнатній температурі до вищезгаданої кислоти, активованої 1-гідрокси-7-азабензотриазолом, додавали сполуку v (0,2М розчин в тетрагідрофурани, 10,5мл, 2,1ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі. Потім фільтрували суміш через целіт. Фільтрат розбавляли етилацетатом (120мл), промивали водою і розсолем. Органічну фазу сушили і концентрували, одержуючи масло жовтого кольору, яке очищали хроматографією на силікагелі (елюент 50% етилацетату з гексаном). Одержано сполуку схvi (0,714г, 66%).



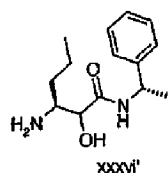
Приклад проміжного продукту 110. Сполука схvii

Сполуку схvi (0,7г, 1,4ммоль) розчиняли в етанолі і додавали 2н. водний розчин гідроксиду натрію (2мл, 4ммоль). Перемішували суміш протягом ночі при кімнатній температурі, після чого підкислювали 5н. хлористоводневою кислотою до рН 3, розбавляли етилацетатом і екстрагували органічну фазу. Органічний екстракт промивали розсолем і сушили над сульфатом магнію. Після концентрування одержано сполуку схvii (95%).



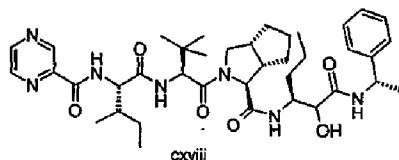
Приклад проміжного продукту 111. Сполука схviii

До розчину сполуки схvii (300мг, 0,6ммоль) в суміші хлористого метилену (10мл) із тетрагідрофураном (2мл) додавали гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (416мг, 0,8ммоль). Розчин перемішували при кімнатній температурі 30хв, а потім додавали сполуку схxvi' (200мг, 0,8ммоль)



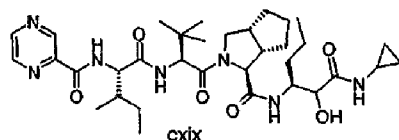
До одержаної суміші додавали діізопропілетиламін (0,22мл, 1,2ммоль). Реакційну масу перемішували протягом ночі при кімнатній температурі, після чого гасили водою (25мл) і витримували 30хв. Потім суміш екстрагували етилацетатом. Одержану органічну фазу промивали розсолем, сушили над сульфатом магнію

і концентрували, одержуючи масло жовтого кольору. Після очищення хроматографією на силікагелі (елюент 3-5% етанолу в етилацетаті) одержано сполуку схviii (335мг, 76%).



Приклад проміжного продукту 112. Сполука схіх

До розчину сполуки схvii (340мг, 0,6ммоль) в хлористому метилені (10мл) додавали гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (470мг, 0,9ммоль). Перемішували розчин при кімнатній температурі 30хв. До розчину потім додавали сполуку хiii' (170мг, 0,9ммоль), а потім діізопропілетиламін (0,24мл, 1,2ммоль). Реакційну масу перемішували протягом ночі при кімнатній температурі, після чого гасили водою (25мл) і витримували 30хв. Потім суміш екстрагували етилацетатом. Одержану органічну фазу промивали розсолем, сушили над сульфатом магнію і концентрували, одержуючи масло жовтого кольору. Після очищення хроматографією на силікагелі (елюент 3-5% етанолу в етилацетаті) одержано сполуку схіх (164мг, 36%).

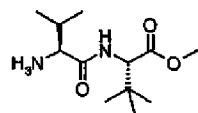


Приклад проміжного продукту 113. Сполука хх

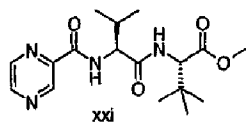
N-Cbz-L-валін (6,28г, 25ммоль) розчиняли в хлористому метилені (30мл). Додавали до розчину 1-гідроксibenзотриазол (3,38г, 25ммоль) і дициклокарбодіімід (25мл, 1М розчин) і перемішували 5хв. Додавали до суміші гідрохлорид метилового складного ефіру L-трет-лейцину (25мл, 1М розчин) і перемішували протягом ночі в атмосфері азоту. Розбавляли реакційну суміш етилацетатом, промивали 1н. хлористоводневою кислотою, насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Органічну фазу сушили над сульфатом натрію, фільтрували і концентрували. Залишок очищали хроматографією з елююванням 20%-30% етилацетату в гексані. Одержано сполуку хх (2,96г, 31%).

Приклад проміжного продукту 114. Сполука ххі

Сполуку хх (2,95г, 7,8ммоль) гідрували, використовуючи 10%-ний паладій на вугіллі (800мг) в метанолі (40мл), одержуючи відповідний вільний амін (1,9г, 100%):

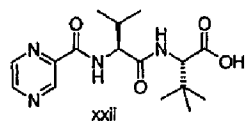


2-піразинкарбонову кислоту (970мг, 7,8ммоль) розчиняли в хлористому метилені (20мл). Додавали до розчину гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (4,06г, 7,8ммоль), Додавали до суміші вищезгаданий вільний амін (1,9г, 7,8ммоль) в хлористому метилені (15мл), а потім діізопропілетиламін (1,36мл, 7,8ммоль). Одержану суміш перемішували протягом ночі в атмосфері азоту. Розбавляли реакційну суміш етилацетатом, промивали органічну фазу насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Після концентрування органічної фази залишок очищали хроматографією з елююванням 30%-40% етилацетату в гексані. Одержано сполуку ххі (2,07г, 75,8%).



Приклад проміжного продукту 115. Сполука ххіі

Сполуку ххі гідролізували, використовуючи метанол (20мл) і 1н. розчин гідроксиду натрію (3екв.). Одержано сполуку ххіі (1,82г, 93,9%).



Приклад проміжного продукту 116. Сполука ххііі

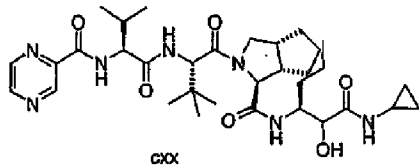
Сполуку ххіі (895мг, 2,66ммоль) розчиняли в хлористому метилені (10мл). До розчину додавали дициклокарбодіімід (3,2ммоль), а потім 1-гідрокси-7-азабензотриазол (435мг, 3,2ммоль). Додавали розчин сполуки v (3,2ммоль) в тетрагідрофурані (16мл). Одержану суміш перемішували протягом ночі в атмосфері азоту. Розбавляли реакційну суміш етилацетатом, фільтрували через шар силікагелю і концентрували. Залишок очищали хроматографією з елююванням 50% етилацетату з гексаном. Одержано сполуку ххііі (730мг, 54,8%).

Приклад проміжного продукту 117. Сполука ххіv

Сполуку xxiii гідролізували, використовуючи етанол (5мл) і 1н. розчин гідроксиду натрію (1,5екв.). Одержано сполуку xxiv (690мг, 100%).

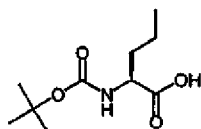
Приклад проміжного продукту 118. Сполука sxx

Сполуку xxiv (245мг, 0,52ммоль) розчиняли в хлористому метилені (3мл). До розчину додавали гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (330мг, 0,62ммоль), а потім сполуку xiii' (120мг, 0,62ммоль). До одержаної суміші додавали діізопропілетиламін (0,11мл, 0,62ммоль). Реакційну масу перемішували протягом ночі в атмосфері азоту. Суміш розбавляли етилацетатом, органічну фазу промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і розсоллом. Після концентрування органічної фази залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 5% етанолу в етилацетаті). Одержано сполуку sxx (220мг, 60%).

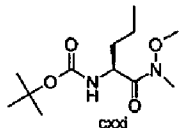


Приклад проміжного продукту 119. Сполука xiii'

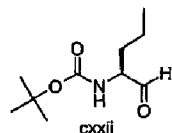
Wos-NVA-OH (24,96г, 114,9ммоль) розчиняли в тетрагідрофурані (200мл).



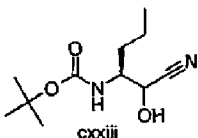
До розчину додавали порціями CDI (22,35г, 137,8ммоль) і перемішували 30хв. Розчиняли в диметилформаміді (50мл) гідрохлорид N,O-диметилгідроксиламіну (12,33г, 126,4ммоль) і додавали до цього розчину діізопропілетиламін (22мл, 126,4ммоль). Розчин в диметилформаміді перемішували протягом 20хв при кімнатній температурі, після чого додавали його до розчину в тетрагідрофурані. Одержану суміш перемішували протягом 2,5 діб в атмосфері азоту. Концентрували реакційну суміш у вакуумі до об'єму 100мл. Промивали органічну фазу 1н. хлористоводневою кислотою, насиченим розчином бікарбонату натрію і розсоллом, після чого концентрували, одержуючи неочищену сполуку sxxi (25,3г).



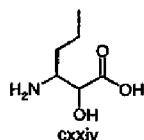
В суху круглодонну колбу місткістю 1л завантажували в атмосфері азоту алюмогідрид літію (107,3ммоль) у формі 1М розчину в діетиловому ефірі. Охолоджували розчин до 0°C і крапля за краплею додавали розчин сполуки sxxi (97,5ммоль) в діетиловому ефірі (100мл). Після завершення додавання перемішували суміш протягом 30хв. Гасили реакцію при 0°C шляхом повільного додавання етилацетату (50мл) з подальшим повільним додаванням 5%-ного розчину бісульфату калію (50мл). Одержану суміш перемішували протягом 30хв. Органічну фазу промивали 1н. хлористоводневою кислотою, насиченим розчином бікарбонату натрію і розсоллом, після чого концентрували, одержуючи неочищену сполуку sxxii (22,28 г).



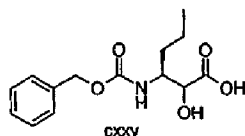
Сполуку sxxii розчиняли в метанолі (100мл). Розчиняли гіпосульфит натрію (16,82г, 96,6ммоль) у воді (100мл) і додавали до розчину сполуки sxxii при 0°C. Суміш витримували в холодильнику (5°C) протягом ночі. Додавали до реакційної суміші розчин ціаніду калію (7,53г, 115,9ммоль) у воді (100мл) і перемішували протягом 1,5год при кімнатній температурі. Сполуку екстрагували етилацетатом (тричі по 100мл). Органічну фазу промивали розсоллом (тричі по 50мл), сушили над сульфатом магнію, фільтрували і концентрували, одержуючи неочищену сполуку sxxiii (15,86г).



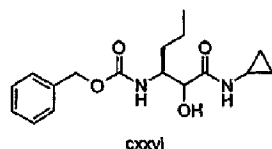
Сполуку sxxiii (15,86г) розчиняли в діоксані (100мл). До цього розчину додавали концентровану хлористоводневу кислоту (37%, 100мл), а потім анізол (10мл) і нагрівали суміш зі зворотним холодильником (110°C). Перемішували суміш протягом 1,5год. Після охолодження реакційної суміші до кімнатної температури розчинник видаляли у вакуумі, одержуючи суху пасту. Цей залишок сушили протягом ночі у високому вакуумі, одержуючи неочищену сполуку sxxiv.



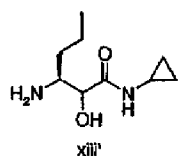
Сполуку sxxiv (69,6ммоль) розчиняли в суміші диметилформаміду (60мл) і тетрагідрофурану (60мл). Додавали до розчину N-(бензил-оксикарбонілокси)сукцинімід (17,33г, 69,6ммоль), а потім діізопропілетиламін (12,1мл, 69,6ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом ночі в атмосфері азоту. Концентрували суміш до малого об'єму (50мл) і розбавляли етилацетатом. Промивали органічну фазу 0,1н. хлористоводневою кислотою (двічі по 100мл) і розсолем. Одержано сполуку sxxv (17,5г, вихід 54,2% по 5 стадіях).



Сполуку sxxv (5,66г, 20,14ммоль) розчиняли в хлористому метилені (60мл). Додавали до розчину гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (12,57г, 24,2ммоль) і 1-гідроксibenзотриазол (3,27г, 24,2ммоль) і перемішували протягом 5хв. Одержану суміш охолоджували до 0°C і додавали циклопропіламін (1,67мл, 24,2ммоль) і діізопропілетиламін (4,2мл, 24,2ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом ночі при нагріванні до кімнатної температури. Промивали суміш 0,1н. хлористоводневою кислотою, насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Органічну фазу концентрували і хроматографічно очищали з елюванням 70% етилацетату з гексаном. Одержано сполуку sxxvi (3,18г, 49,3%).

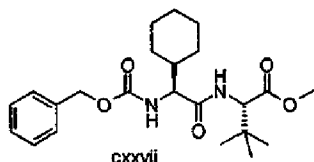


Сполуку sxxvi (3,18г, 9,94ммоль) гідрували з використанням 10%-ного паладію на вугіллі (600мг) в метанолі (70мл). Перемішували реакційну суміш протягом ночі в атмосфері водню, фільтрували через целіт і концентрували. Одержано неочищену сполуку xiii' (2,1г, 100%).



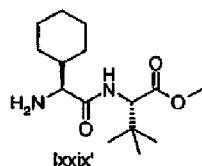
Приклад проміжного продукту 120. Сполука sxxvii

N-Cbz-L-циклогексилгліцин (3г, 10,3ммоль) розчиняли в хлористому метилені (36мл). До розчину додавали 1-гідрокси-7-азабензотриазол (1,5г, 11,28ммоль) і дициклокарбодіімід (11,28мл, 11,28ммоль) і перемішували 5хв. Додавали до суміші гідрохлорид метилового складного ефіру L-трет-лейцину (1М розчин, 103мл, 10,3ммоль) і перемішували протягом ночі в атмосфері азоту. Фільтрували реакційну суміш через целіт, промивали етилацетатом і концентрували, одержуючи залишок, який очищали хроматографією з використанням 20%-30% етилацетату в гексані. Одержано сполуку sxxvii (2,2г, 52%).



Приклад проміжного продукту 121. Сполука lxxix'

Сполуку sxxvii (2,2г, 5,2ммоль) гідрували з використанням 20%-ного гідроксиду паладію на вугіллі (1г) в метанолі (15мл) в атмосфері водню. Одержано сполуку lxxix' (1,4г, 98%).



Приклад проміжного продукту 122. Сполука lxxx

2-піразинкарбонову кислоту (360мг, 2,9ммоль) розчиняли в хлористому метилені (10мл). Додавали до розчину гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (1,81г, 3,5ммоль). Додавали до суміші сполуку lxxix' (825мг, 2,9ммоль) в тетрагідрофурани (10мл), а потім діізопропілетиламін (0,5мл, 2,9ммоль). Одержану суміш перемішували протягом ночі в атмосфері азоту. Розбавляли реакційну суміш етилацетатом, промивали органічну фазу насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Після концентрування органічної фази залишок очищали хроматографією з елюванням 30% етилацетату в гексані. Одержано сполуку lxxx (780мг, 69%).

Приклад проміжного продукту 123. Сполука lxxxi

Сполуку lxxx гідролізували з використанням метанолу (10мл) і 1н. розчину гідроксиду натрію (3екв.). Одержано сполуку lxxxi (615мг, 81,8%).

Приклад проміжного продукту 124. Сполука lxxxii

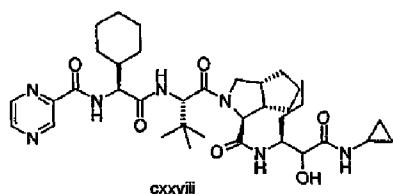
Сполуку lxxxi (610мг, 1,6ммоль) розчиняли в хлористому метилені (10мл). Додавали до розчину дициклокарбодіімід (1,94мл, 1,94ммоль), а потім 1-гідрокси-7-азабензотриазол (270мг, 1,94ммоль). Додавали до розчину сполуку v (1,94ммоль) в тетрагідрофурани (19,4мл). Одержану суміш перемішували протягом двох ночей в атмосфері азоту. Розбавляли реакційну суміш етилацетатом, фільтрували через шар силікагелю і концентрували. Залишок очищали хроматографією з елюванням 40% етилацетату в гексані. Одержано сполуку lxxxii (450мг, 83,4%).

Приклад проміжного продукту 125. Сполука lxxxiii

Сполуку lxxxii гідролізували з використанням етанолу (10мл) і 1н. розчину гідроксиду натрію (3екв.). Одержано сполуку lxxxiii (650мг, 99%).

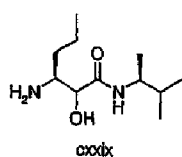
Приклад проміжного продукту 126. Сполука sxxviii

Сполуку lxxxiii (400мг, 0,78ммоль) розчиняли в хлористому метилені (5мл). Додавали до розчину гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (610мг, 1,2ммоль), а потім сполуку xiii' (230мг, 1,2ммоль). До одержаної суміші додавали діізопропілетиламін (0,2мл, 1,2ммоль). Одержану суміш перемішували протягом ночі в атмосфері азоту. Розбавляли реакційну суміш етилацетатом, промивали органічну фазу насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Після концентрування органічної фази залишок очищали хроматографією із градієнтом складу елюенту від 100% етилацетату до 5% етанолу в етилацетаті. Одержано сполуку sxxviii (365мг, 68,7%).

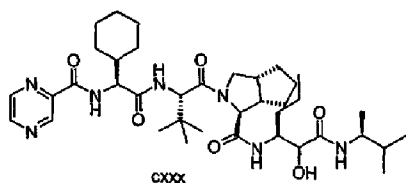


Приклад проміжного продукту 127. Сполука sxxx

Сполуку lxxxiii (365мг, 0,7ммоль) розчиняли в хлористому метилені (5мл). Додавали до розчину гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (440мг, 0,84ммоль), а потім сполуку sxxix (0,84ммоль) в тетрагідрофурани (8,4мл).

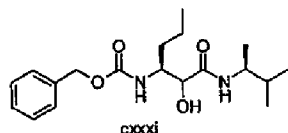


До одержаної суміші додавали діізопропілетиламін (0,1мл, 0,84ммоль). Одержану суміш перемішували протягом ночі в атмосфері азоту. Розбавляли реакційну суміш етилацетатом, промивали органічну фазу насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Після концентрування органічної фази залишок очищали хроматографією з елюванням 100%-ним етилацетатом. Одержано сполуку sxxx (350мг, 70%).



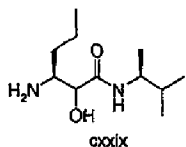
Приклад проміжного продукту 128. Сполука sxxxi

Сполуку sxxv (2,54г, 9,05ммоль) розчиняли в хлористому метилені (30мл). Додавали до розчину гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (5,65г, 10,9ммоль) і 1-гідроксибензотриазол (1,47г, 10,9ммоль) і перемішували 5хв. Одержану суміш охолоджували до 0°C і додавали (S)-(+)-3-метил-2-бутиламін (1,27мл, 10,9ммоль) і діізопропілетиламін (1,9мл, 10,9ммоль). Одержану суміш перемішували протягом ночі при нагріванні до кімнатної температури. Органічну фазу промивали 0,1н. хлористоводневою кислотою, насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Після концентрування органічної фази залишок очищали хроматографією з елюванням 30% етилацетату в гексані. Одержано сполуку sxxxi (1,44г, 45,5%).



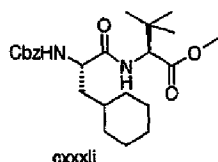
Приклад проміжного продукту 129. Сполука cxxxi

Сполуку cxxxi (1,3г, 3,7ммоль) гідрували з використанням 10%-ного паладію на вугіллі (500мг) в метанолі (40мл). Реакційну суміш перемішували протягом ночі в атмосфері водню. Фільтрували суміш через целіт і концентрували органічну фазу. Одержано неочищену сполуку cxxxi (800мг, 100%).

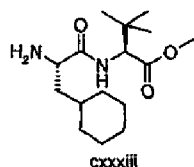


Приклад проміжного продукту 130. Сполука cxxxiv

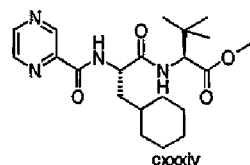
Сполуку cxxxii (1,6г, 3,7ммоль) розчиняли в метанолі (12мл)



Після ретельного продування азотом додавали 10%-ний гідроксид паладію на вугіллі (0,74г) і гідрували суміш протягом ночі, після чого хроматографія в тонкому шарі (елюент 30% етилацетату в гексані) посвідчила повноту реакції. Розчин відділяли від твердої речовини фільтруванням і концентрували, одержуючи сполуку cxxxiii (вихід 100%) у вигляді безбарвного масла, яку використовували на наступній стадії без додаткового очищення.

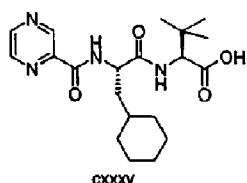


2-піразинкарбонову кислоту (400мг, 3,2ммоль, 1,1екв.) розчиняли в суміші 4мл хлористого метилену з 4мл тетрагідрофурану і додавали 1-гідрокси-7-азабензотриазол (440мг, 3,2ммоль) і дициклокарбодіімід (3,3мл, 1М розчин в хлористому метилені). Після перемішування при кімнатній температурі протягом 20хв додавали до активованої суміші сполуку cxxxiii, одержану на попередній стадії (0,96г, 3,2ммоль), розчинену в хлористому метилені (6,4мл). Після перемішування при кімнатній температурі протягом двох діб реакційну суміш фільтрували через шар целіту і концентрували. Залишок очищали хроматографією на колонці (елюент 50% етилацетату в гексані). Одержано сполуку cxxxiv у формі білої твердої речовини (1,06г, 83%).



Приклад проміжного продукту 131. Сполука cxxxv

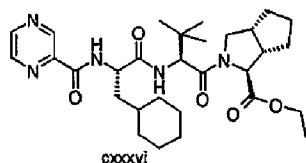
Сполуку cxxxiv (1,06г, 2,6ммоль) розчиняли в метанолі (10мл) і додавали до розчину 2н. водний розчин гідроксиду натрію (4мл, 8ммоль). Одержану суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі, після чого хроматографія в тонкому шарі (елюент 50% етилацетату в гексані) посвідчила завершення гідролізу. Розчин підкислювали до pH 3-5н. хлористоводневою кислотою, розбавляли етилацетатом і екстрагували органічну фазу. Екстраговану органічну фазу промивали розсолем і сушили над сульфатом магнію. Після концентрування одержано сполуку cxxxv (100%).



Приклад проміжного продукту 132. Сполука cxxxvi

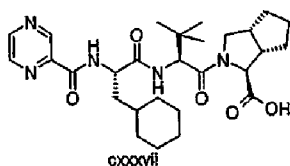
До розчину сполуки cxxxv (1,44г, 3,7ммоль) в хлористому метилені (8мл) додавали при кімнатній

температурі 1-гідрокси-7-азабензотриазол (500мг, 3,7ммоль), а потім 1М розчин дициклокарбодііміду в хлористому метилені (3,7мл, 3,7ммоль). Після перемішування протягом 30хв при кімнатній температурі додавали до вищезгаданої кислоти, активованої 1-гідрокси-7-азабензотриазолом, 0,2М розчин сполуки v (3,7ммоль) в тетрагідрофурани (18,5мл). Одержану суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі. Фільтрували реакційну суміш через целіт. Фільтрат розбавляли етилацетатом (120мл) і промивали водою і розсоллом. Органічну фазу сушили і концентрували, одержуючи жовте масло, яке очищали хроматографією на силікагелі (елюент 70% етилацетату з гексаном). Одержано сполуку sxxxvi (1г, 71%).



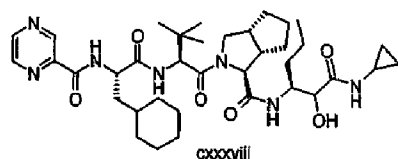
Приклад проміжного продукту 133(a). Сполука sxxxvii

До розчину сполуки sxxxvi (1г, 1,8ммоль) в метанолі (8мл) додавали 2н. водний розчин гідроксиду натрію (2,7мл, 5,4ммоль). Одержану суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі, після чого підкислювали 5н. хлористоводневою кислотою до pH 3, розбавляли етилацетатом і екстрагували органічну фазу. Екстраговану органічну фазу промивали розсоллом і сушили над сульфатом магнію. Після концентрування одержано сполуку sxxxvii (88%).



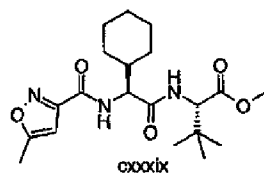
Приклад проміжного продукту 133 (b) Сполука sxxxviii

До розчину сполуки sxxxvii (350мг, 0,6ммоль) в хлористому метилені (10мл) додавали гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (450мг, 0,86ммоль). Перемішували суміш при кімнатній температурі протягом 30хв. Потім до цього розчину додавали сполуку xiii' (160мг, 0,86ммоль), а потім діізопропілетиламін (0,23мл, 1,3ммоль). Одержану суміш перемішували протягом ночі, потім гасили водою (25мл) і витримували 30хв. Суміш екстрагували етилацетатом. Екстраговану органічну фазу промивали розсоллом і сушили над сульфатом магнію, після чого концентрували, одержуючи жовте масло. Після очищення хроматографією на силікагелі (елюент 5% етанолу в етилацетаті) одержано сполуку sxxxviii (407мг, 88%).



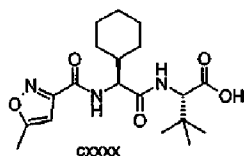
Приклад проміжного продукту 134. Сполука sxxxix

5-метилізоксазол-3-карбонову кислоту (200мг, 2,05ммоль) розчиняли в хлористому метилені (5мл). Додавали до розчину гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (1,07г, 2,05ммоль). До суміші додавали сполуку lxxix' (582мг, 2,05ммоль) в хлористому метилені (5мл), а потім діізопропілетиламін (0,36мл, 2,05ммоль). Одержану суміш перемішували протягом ночі в атмосфері азоту. Розбавляли реакційну суміш етилацетатом і промивали органічну фазу насиченим розчином бікарбонату натрію і розсоллом. Органічну фазу концентрували і очищали одержаний залишок хроматографією (елюент 30% етилацетату в гексані). Одержано сполуку sxxxix (495мг, 61,4%).



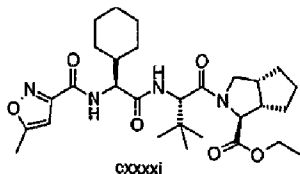
Приклад проміжного продукту 135. Сполука sxxxx

Сполуку sxxxix гідролізували з використанням етанолу (10мл) і 1н. розчину гідроксиду натрію (3екв.). Одержано сполуку sxxxx (430мг, 90%).



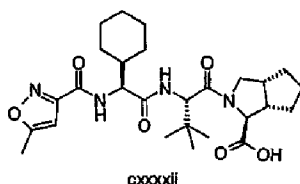
Приклад проміжного продукту 136. Сполука sxxxxi

Сполуку sxxxx (380мг, 1ммоль) розчиняли в хлористому метилені (5мл). Додавали до розчину дициклокарбодіїмід (1,2ммоль), а потім 1-гідрокси-7-азабензотриазол (165мг, 1,2ммоль). Потім додавали розчин сполуки v (1,2ммоль) в тетрагідрофурані (12мл). Суміш перемішували протягом ночі в атмосфері азоту. Реакційну суміш розбавляли етилацетатом, фільтрували через силікагель і концентрували. Залишок очищали хроматографією (елюент 35% етилацетату в гексані). Одержано сполуку sxxxxi (320мг, 58%).



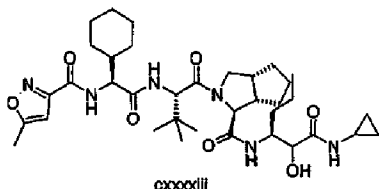
Приклад проміжного продукту 137. Сполука sxxxxii

Сполуку sxxxxi гідролізували з використанням етанолу (10мл) і 1н. розчину гідроксиду натрію (3екв.). Одержано сполуку sxxxxii (730мг, 94,3%).



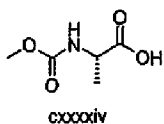
Приклад проміжного продукту 138. Сполука sxxxxiii

Сполуку sxxxxii (240мг, 0,46ммоль) розчиняли в хлористому метилені (5мл). Додавали до розчину гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (295мг, 0,56ммоль), а потім сполуку xiii' (110мг, 0,56ммоль). До одержаної суміші додавали діізопропілетиламін (0,1мл, 0,56ммоль). Одержану суміш перемішували протягом двох діб в атмосфері азоту. Розбавляли реакційну суміш етилацетатом і промивали органічну фазу насиченим розчином бікарбонату натрію і розсоллом. Органічну фазу концентрували і очищали одержаний залишок хроматографією (елюент 90% етилацетату з гексаном). Одержано сполуку sxxxxiii (168мг, 53%).



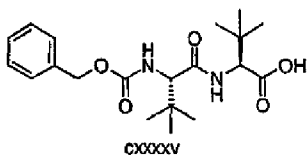
Приклад проміжного продукту 139. Сполука sxxxxiv

До розчину гідроксиду натрію (2н., 42,1мл, 84,2ммоль) додавали при температурі 5°C L-аланін (5,00г, 56,1ммоль). Після 10-хвилинного перемішування додавали крапля за краплею одночасно метилхлорформіат (6,5мл, 84,2ммоль) і розчин гідроксиду натрію (2н., 42,1мл, 84,2ммоль). Суміш перемішували в бані з льодом протягом 2год, а потім при кімнатній температурі 1год. Промивали суміш діетиловим ефіром (двічі по 50мл), водний шар нейтралізували до pH 2 5н. хлористоводневою кислотою і екстрагували етилацетатом (тричі по 50мл). Екстраговану органічну фазу промивали розсоллом, сушили над сульфатом магнію і концентрували. Одержано сполуку sxxxxiv, N-карбометокси-L-аланін (4,54г, 54%) у вигляді безбарвного масла.



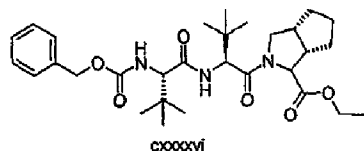
Приклад проміжного продукту 140. Сполука sxxxxv

Розчин сполуки sxxxxv (3,57г, 9,44ммоль) в тетрагідрофурані



обробляли при 5°C 1-гідрокси-7-азабензотриазолом (1,28г, 9,44ммоль), а потім додавали дициклокарбодіїмід (9,50мл, 9,50ммоль). Після перемішування на бані з льодом протягом 45хв додавали розчин сполуки v в тетрагідрофурані (104мл, 10,4ммоль). Суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі. Охолоджували суміш до 5°C і гасили насиченим розчином бікарбонату натрію. Після фільтрування для видалення осажденої DCU (дициклогексилсечовина) суміш розчиняли в етилацетаті

(100мл), промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем, сушили над сульфатом магнію і концентрували, одержуючи залишок, який очищали хроматографією на колонці з діоксидом кремнію (елюент 25% етилацетату в гексані). Одержано сполуку sxxxxvi (2,91г, 57%) у вигляді гумоподібної піни.

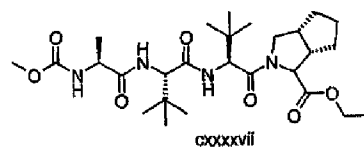


Приклад проміжного продукту 141. Сполука cviii

До розчину сполуки sxxxxvi в метанолі (25мл) при охолодженні в бані з льодом в потоці азоту повільно додавали паладій на вугіллі. Суміш гідрували протягом ночі під тиском водню 1атм. Каталізатор відділяли фільтруванням, фільтрат змішували з 5мл диметилформаміду і сушили у вакуумі. Одержано сполуку cviii.

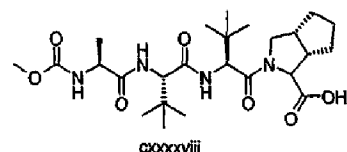
Приклад проміжного продукту 142. Сполука sxxxxvii

До розчину сполуки sxxxxiv (0,298г, 2,03ммоль) і 1-гідрокси-7-азабензотриазолу (0,276г, 2,03ммоль) в тетрагідрофурані, охолодженого в бані з льодом, додавали дициклокарбодіімід (2,05мл, 2,05ммоль). Після перемішування на охолоджувальній бані протягом 0,5год додавали розчин сполуки cviii в тетрагідрофурані, а потім діізопропілетиламін (0,39мл, 2,2ммоль). Суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі, потім охолоджували в бані з льодом і гасили насиченим розчином бікарбонату натрію. Відділяли осаджену похідну сечовини фільтруванням і розчиняли фільтрат в етилацетаті (100мл). Органічну фазу промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем і сушили над сульфатом магнію. Залишок після видалення органічного розчинника очищали хроматографією на колонці з діоксидом кремнію (елюент 60% етилацетату з гексаном). Одержано сполуку sxxxxvii (0,47г, 48%) у вигляді гумоподібної піни.



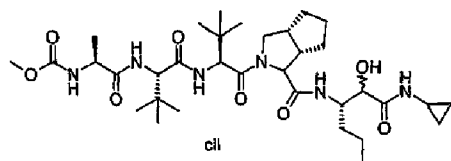
Приклад проміжного продукту 143. Сполука sxxxxviii

До розчину сполуки sxxxxvii (0,47г, 0,847ммоль) в етанолі (5мл) додавали при 5°C гідроксид натрію (2н. розчин, 1,31мл, 2,62ммоль). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 4год. Підкислювали розчин 1н. хлористоводневою кислотою до pH 2 і видаляли етанол у роторному випарнику. Суміш екстрагували етилацетатом (тричі по 30мл), об'єднані екстракти промивали розсолем і сушили над сульфатом магнію. Видаляли розчинник і сушили залишок у вакуумі. Одержано сполуку sxxxxviii (0,366г, 82%) у вигляді гумоподібної піни.



Приклад проміжного продукту 144. Сполука cil

Розчин сполуки sxxxxviii (0,366г, 0,718ммоль) в хлористому метилені охолоджували на бані з льодом і обробляли гексафторфосфатом бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (0,599г, 1,15ммоль). Після перемішування при кімнатній температурі протягом 0,5год суміш охолоджували на бані з льодом і обробляли розчином сполуки xiii' (0,200г, 1,08ммоль) в тетрагідрофурані і діізопропілетиламіном (0,250мл, 1,44ммоль). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі, а потім гасили розчином хлориду амонію. Випаровували розчинник і розчиняли суміш в етилацетаті (100мл). Органічну фазу промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем і сушили над сульфатом магнію. Залишок після видалення органічного розчинника очищали хроматографією на колонці (елюент 5% етанолу в етилацетаті). Одержано сполуку cil (0,35г, 72%).



Приклад проміжного продукту 145. Сполука sxxi

До розчину N-Вос-Nva-OH (сполуки 1) (8,68г, 40ммоль) в тетрагідрофурані (85мл) додавали CDI. Після перемішування протягом 30хв при кімнатній температурі вищезгаданий розчин обробляли розчином гідрохлориду N,O-диметилгідроксиламіну (4,25г, 44ммоль) і діізопропілетиламіну (7,66мл, 44ммоль) в диметилформаміді (25мл). Перемішували реакційну суміш при кімнатній температурі протягом ночі, а потім концентрували у вакуумі. Залишок розбавляли етилацетатом (300мл). Цей розчин промивали послідовно 0,1н. хлористоводневою кислотою (50мл), насиченим розчином бікарбонату натрію (тричі по 50мл) і розсолем. Органічну фазу концентрували у вакуумі. Залишок очищали хроматографією на силікагелі

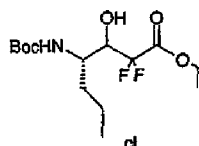
(елюент 40% етилацетату в гексані). Одержано сполуку сххі (9,38г, 94%).

Приклад проміжного продукту 146. Сполука сххіі

До розчину сполуки сххі (9,38г, 31,9ммоль) в діетиловому ефірі (50мл), охолодженого до 0°C, повільно додавали алюмогідрид літію (1М розчин, 34,7мл, 34,7ммоль). На протязі додавання алюмогідриду в реакційній колбі підтримували температуру нижче 5°C. Після завершення додавання до реакційної суміші додавали етилацетат (20мл) для гасіння надлишку алюмогідриду літію. Потім додавали крапля за краплею водний розчин бісульфату калію (5%-ний, 20мл) так, щоб підтримувалася температура в колбі нижче 5°C. Відділяли органічну фазу і промивали послідовно 1н. хлористоводневою кислотою (тричі по 30мл), насиченим розчином бікарбонату натрію (тричі по 30мл) і розсолон. Органічну фазу концентрували і сушили у вакуумі. Одержано неочищену сполуку сххіі (5,18г, 69%).

Приклад проміжного продукту 147. Сполука сі

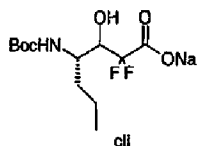
До суспензії цинку (2,75г, 42ммоль) в тетрагідрофурані (25мл) додавали при нагріванні зі зворотним холодильником 0,2мл етилового ефіру дифторбромової кислоти. Потім повільно додавали розчин сполуки сххіі (3,05г, 15,0ммоль) і етилового ефіру дифторбромової кислоти (4,84мл, 37,5ммоль). Після завершення додавання обох реагентів нагрівали реакційну суміш зі зворотним холодильником ще протягом 30хв. Охолоджували суміш до кімнатної температури і розбавляли хлористим метиленом (200мл). Органічну фазу промивали 1н. розчином бісульфату калію, концентрували і сушили у вакуумі. Одержаний залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 20% етилацетату в гексані). Одержано сполуку сі (2,78г, 57%).



Цей спосіб практично відтворює методику, описану [Тесрівонгом та іншими (Thaisrivongs et al., J. Med. Chem. 29. 2080-2087, 1986)].

Приклад проміжного продукту 148. Сполука сіі

Розчин сполуки сі (2,78г, 8,53ммоль) в тетрагідрофурані (40мл) обробляли 1н. розчином гідроксиду натрію (12,8мл, 12,8ммоль). Після перемішування протягом ночі при кімнатній температурі розчинник частково видаляли у вакуумі. Залишок реакційної суміші розбавляли водою (50мл) і ліофілізували. Одержано сполуку сіі (2,82г, >100%) у формі натрієвої солі.

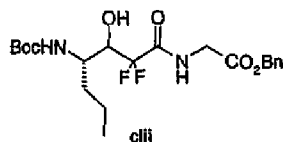


Цей спосіб практично відтворює методику, описану [Тесрівонгом та іншими (Thaisrivongs et al., J. Med. Chem. 29. 2080-2087, 1986)].

Приклад проміжного продукту 149. Сполука сііі

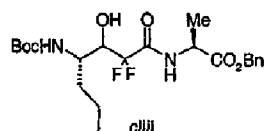
Розчин неочищеної сполуки сіі (516мг, 1,61ммоль) в хлористому метилені (10мл) обробляли 1-гідроксибензотриазолом (436мг, 3,23ммоль) і 1,3-діізопропілкарбодіімідом (0,328мл, 2,09ммоль). Після перемішування при кімнатній температурі протягом 30хв реакційну суміш обробляли розчином тозиллової солі бензилового складного ефіру гліцину (815мг, 2,42ммоль) і діізопропілетиламіном (0,422мл, 2,42ммоль). Після перемішування протягом 12год при кімнатній температурі реакційну суміш гасили водою і екстрагували етилацетатом. Органічну фазу сушили і концентрували у вакуумі і очищали залишок хроматографією на силікагелі (елюент 40% етилацетату в гексані). Одержано сполуку сііі (495мг, 69%).

¹H-ЯМР сполуки сііі: (400мгц, CDCl₃): δ 7,29-7,21 (m, 5H), 5,16 (bs, 2H), 4,89 (bs, 1H), 4,20-3,90 (m, 4H), 3,80 (bs, 1H), 1,75-1,42 (m, 4H), 1,38 (s, 9H), 0,87 (m, 3H).



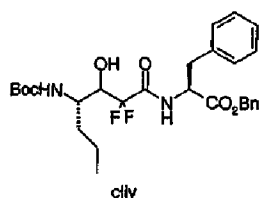
Із неочищеної сполуки сіі за методикою, описаною для синтезу сполуки сііі, одержано сполуку сіііі (вихід 83%) і сіііv (50%).

¹H-ЯМР сполуки сіііі: (400мгц, CDCl₃): δ 7,49 (bs, 1H), 7,34-7,24 (m, 5H), 5,13 (AB q, J=12,2Гц, J'=23,9Гц, 2H), 4,88 (bd, J=8,8Гц, 1H), 4,53 (m, 1H), 3,98-3,91 (m, 2H), 3,82 (m, 1H), 1,65-1,20 [m, 16H, включаючи синглет на 1,37 (9H)], 0,86 (t, J=7,3Гц, 3H).



¹H-ЯМР сполуки сіііv: (400мгц, CDCl₃): δ 7,60-7,0 (m, 10H), 5,30-5,00 (m, 2H), 5,00-4,75 (m, 2H), 4,15-3,70

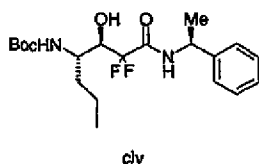
(m, 3H), 3,30-3,00 (m, 2H), 1,75-1,20 [m, 13H, включаючи синглет на 1,36 (9H)], 0,86 (bs, 3H).



Приклад проміжного продукту 150. Сполука clv

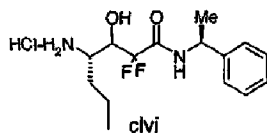
До розчину неочищеної сполуки cli (1г, 3,13ммоль) в хлористому метилені (10мл) і тетрагідрофурані (5мл) додавали 1-гідроксибензотриазол (634мг, 4,69ммоль) і гідрохлорид і-етил-3-(3-диметиламінопропіл)-карбодііміду (781мг, 4,07ммоль), а потім (s)- α -метилбензиламін (0,604мл, 4,69ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі, після чого гасили водою. Екстрагували реакційну суміш етилацетатом, органічну фазу промивали розсолем, сушили над сульфатом натрію і концентрували у вакуумі. Залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 20% етилацетату в гексані). Одержано сполуку clv (459мг, 37%).

CDCl₃ сполуки clv: (400мгц, CDCl₃): δ 7,32-7,21 (m, 6H), 5,00 (m, 1H), 4,75 (m, 1H), 3,94 (m, 2H), 3,70 (m, 1H), 1,65-1,15 [m, 16H, включаючи дублет на 1,51 (J=6,8Гц, 3H), синглет на 1,39 (9H)], 0,82 (m, 3H).

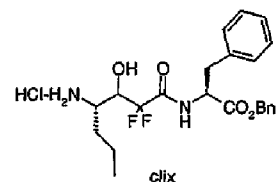
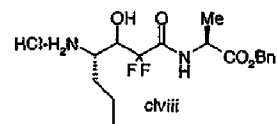
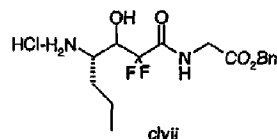


Приклад проміжного продукту 151. Сполука clvi

Сполуку clv (220мг, 0,55ммоль) розчиняли в 4н. розчині хлороводню в діоксані (10мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 2год, після чого концентрували у вакуумі. Одержано неочищену сполуку clvi (вихід приблизно 100%) у формі гідрохлориду.

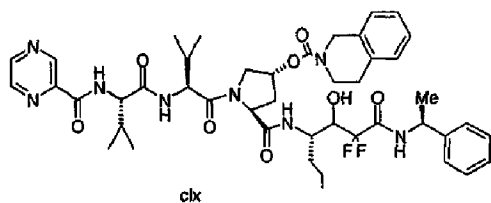


Із неочищеної сполуки cli за методикою, описаною для синтезу сполуки clvi, одержано сполуки clvii, clviii і clix із майже кількісним виходом.



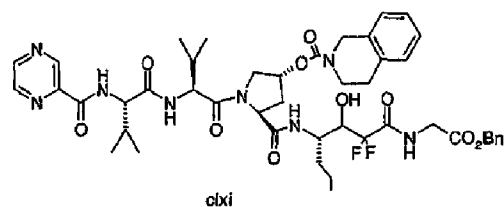
Приклад проміжного продукту 152. Сполука clx

Розчин хлористоводневої солі сполуки vii (96мг, 0,144ммоль) в хлористому метилені (4мл) обробляли гексафторфосфатом бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (120мг, 0,23ммоль) і діізопропілетиламіном (0,1мл, 0,576ммоль). Після перемішування при кімнатній температурі протягом 30хв розчин обробляли сполукою clv (0,288ммоль) і діізопропілетиламіном (0,2мл, 1,152ммоль) в тетрагідрофурані (4мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі, а потім розбавляли етилацетатом (50мл). Органічну фазу промивали розчином бікарбонату натрію і розсолем, концентрували у вакуумі і очищали залишок хроматографією на силікагелі (елюент 80% етилацетату з гексаном). Одержано сполуку clx (113мг, 89%).



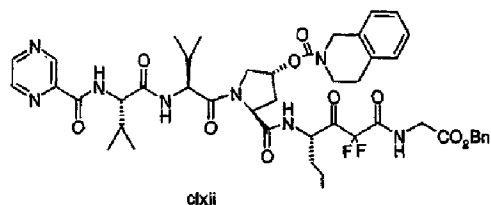
Приклад проміжного продукту 153. Сполука clxi

Розчин сполуки vii (140мг, 0,235ммоль) в хлористому метилені (6мл) обробляли гексафторфосфатом бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (196мг, 0,376ммоль) протягом 30хв. Додавали до цього розчину сполуку clvii (приблизно 0,47ммоль) і діізопропілетиламін (0,327мл, 1,88ммоль) в тетрагідрофурані (6мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі, а потім гасили водою (30хв). Екстрагували реакційну суміш етилацетатом (50мл). Органічну фазу промивали розчином бікарбонату натрію і розсолем. Об'єднані водні шари знову екстрагували етилацетатом (50мл). Об'єднані органічні фази сушили і концентрували у вакуумі. Одержаний залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 80-100% етилацетату з гексаном). Одержано сполуку clxi (104мг, 48%).



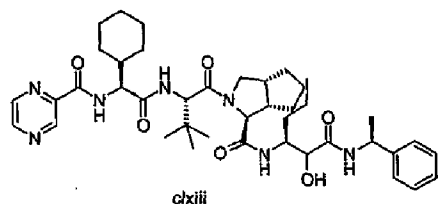
Приклад проміжного продукту 154. Сполука clxii

До розчину сполуки clxi (280мг, 0,304ммоль) в хлористому метилені (6мл) додавали йодний реактив Десса-Мартіна (193мг, 0,456ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 3год, а потім гасили 10%-ним розчином сульфату натрію. Органічну фазу промивали розчином бікарбонату натрію і розсолем, сушили і концентрували у вакуумі. Одержаний залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 80-100% етилацетату з гексаном). Одержано сполуку clxii (271мг, 97%).



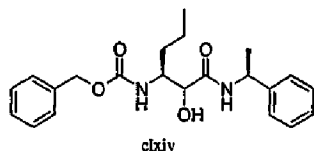
Приклад проміжного продукту 155. Сполука clxiii

Сполуку lxxxiii (220мг, 0,43ммоль) розчиняли в хлористому метилені (5мл). Додавали до розчину гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (270мг, 0,51ммоль) і перемішували 5хв. Додавали до розчину крапля за краплею сполуку xxxvi' (0,51ммоль) в тетрагідрофурані (5,1мл). Додавали до реакційної суміші діізопропілетиламін (0,09мл, 0,51ммоль). Суміш перемішували протягом ночі в атмосфері азоту. Наступного дня реакційну суміш розбавляли етилацетатом, промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Після очищення з використанням градієнту 70-90% етилацетату з гексаном одержано сполуку clxiii (180мг, 56%).



Приклад проміжного продукту 156. Сполука clxiv

Сполуку sxxv (2,09г, 7,4ммоль) розчиняли в хлористому метилені (20мл). Додавали до розчину гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (4,64г, 8,9ммоль) і перемішували 5хв. Охолоджували одержану суміш до 0°C і додавали (S)(-)- α -метилбензиламін (1,15г, 8,9ммоль) і діізопропілетиламін (1,55мл, 8,9ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом ночі при нагріванні до кімнатної температури. Промивали суміш 0,1н. хлористоводневою кислотою, насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Після очищення з використанням 30% етилацетату в гексані одержано сполуку clxiv (1,6г, 56,3%).

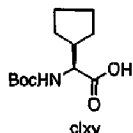


Приклад проміжного продукту 157. Сполука xxxvi'

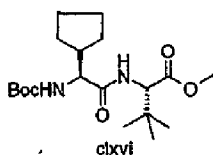
Сполуку clxiv (1,48г, 3,8ммоль) гідрували з використанням 10%-ного паладію на вугіллі (300мг) в метанолі (50мл). Реакційну суміш перемішували протягом ночі в атмосфері водню. Фільтрували суміш через целіт і концентрували. Одержано сполуку xxxvi' (895мг, 94,2%).

Приклад проміжного продукту 158. Сполука clxv

До розчину сполуки clxv (2г, 8,2ммоль) в хлористому метилені (15мл)

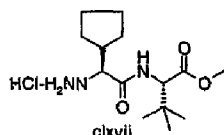


додавали 1-гідрокси-7-азабензотриазол (1,34г, 9,84ммоль) і дициклокарбодіїмід (1М розчин, 9,84мл, 9,84ммоль). Після перемішування при кімнатній температурі протягом 20хв додавали гідрохлорид метилового ефіру трет-L-лейцину (9,84ммоль) і діізопропілетиламін (1,72мл, 9,84ммоль) в тетрагідрофурані (9,84мл). Потім при кімнатній температурі додавали 4-(N,N-диметиламіно)піридин (1г, 8,2ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі. Після стандартного оброблення водою і хроматографії на силікагелі (елюент 20% етилацетату в гексані) одержано сполуку clxvi (1,75г, 58%).



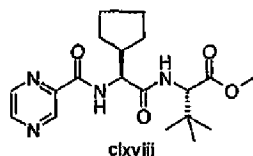
Приклад проміжного продукту 159. Сполука clxvii

До розчину сполуки clxvi (1,75г, 4,73ммоль) в тетрагідрофурані (35мл) додавали 4н. розчин хлороводню в діоксані (11,8мл, 47,3ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі. Потім розчинник видаляли під зниженим тиском. Одержано неочищену сполуку clxvii (вихід приблизно 100%), яку розчиняли в диметилформаміді і безпосередньо використовували на наступній стадії.



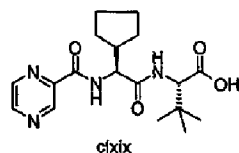
Приклад проміжного продукту 160. Сполука clxviii

До розчину 2-піразинкарбонової кислоти (447мг, 3,6ммоль) і гексафторфосфату бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (1,87г, 3,6ммоль) додавали розчин сполуки clxvii (811мг, 3ммоль) в диметилформаміді (15мл). До одержаної суміші потім додавали діізопропілетиламін (0,63мл, 3,6ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі, після чого гасили водою. Екстрагували суміш етилацетатом. Органічний шар промивали розсолем і концентрували у вакуумі. Одержаний залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 40% етилацетату з гексаном). Одержано сполуку clxviii (0,93г, 82%).

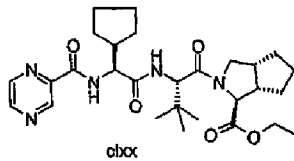


Приклад проміжного продукту 161. Сполука clxix

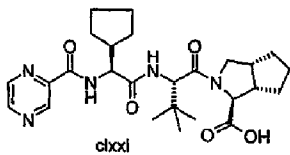
До розчину сполуки clxviii (0,93г, 2,47ммоль) в метанолі (10мл) додавали 2н. розчин гідроксиду натрію (3,71мл, 7,41ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі. Потім підкислювали реакційну суміш до pH 3 1н. хлористоводневою кислотою, розбавляли етилацетатом (75мл) і промивали водою і розсолем. Органічний шар сушили і концентрували у вакуумі. Одержано сполуку clxix (приблизно 100%).



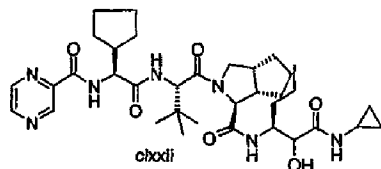
Розчин сполуки сіхіх (2,47ммоль) в хлористому метилені (10мл) обробляли 1-гідрокси-7-азабензотриазолом (436мг, 3,21ммоль) і дициклокарбодіімідом (1М розчин, 3,2мл, 3,2ммоль). Після перемішування протягом 30хв реакційну суміш обробляли розчином сполуки v (499мг, 2,72ммоль) в тетрагідрофурані (13,6мл). Після перемішування протягом ночі при кімнатній температурі відділяли фільтруванням тверду фазу (сечовину). Фільтрат концентрували у вакуумі, а залишок очищали хроматографією на силікагелі. Одержано сполуку сіхх (0,99г, 76%).



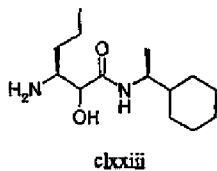
До розчину сполуки сіхх (0,99г, 1,88ммоль) в етанолі (20мл) додавали 2н. розчин гідроксиду натрію (2,81мл, 5,63ммоль). Після перемішування протягом ночі при кімнатній температурі реакційну суміш підкислювали 1н. хлористоводневою кислотою до рН 3. Розбавляли суміш етилацетатом (75мл). Органічний шар сушили і концентрували у вакуумі. Одержано сполуку сіххі (772мг, 82%).



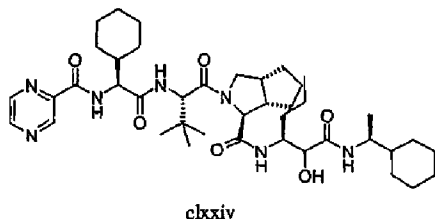
Розчин сполуки сіххі (290мг, 0,58ммоль) в хлористому метилені (10мл) обробляли гексафторфосфатом бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (484мг, 0,93ммоль). Після перемішування протягом 20хв при кімнатній температурі реакційну суміш обробляли розчином сполуки хіі' (140мг, 0,75ммоль), а потім діізопропілетиламіном (0,13мл, 0,75ммоль). Після перемішування протягом ночі при кімнатній температурі реакційну суміш гасили водою і екстрагували етилацетатом. Органічний шар промивали розсолон, сушили і концентрували у вакуумі. Одержаний залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 5% етанолу в етилацетаті). Одержано сполуку сіхххі (290мг, 75%).



Сполуку Іхххii (600мг, 1,17ммоль) розчиняли в хлористому метилені (4мл). Додавали до розчину гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (670мг, 1,3ммоль), перемішували 5хв і охолоджували до 0°C. Додавали краплі за краплею розчин сполуки Іхххii

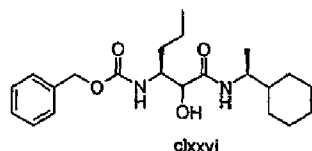


(333мг, 1,3ммоль) в тетрагідрофурані (13мл). Додавали до реакційної суміші діізопропілетиламін (0,23мл, 1,3ммоль) і давали нагрітися до температури навколишнього середовища при перемішуванні протягом двох діб. Наступного дня реакційну суміш концентрували і очищали, застосовуючи 2% етанолу в етилацетаті. Одержано неочищену сполуку *slxxiv* (900мг, вихід більше 100%).



Сполучку сххх (3,01г, 10,7ммоль) розчиняли в хлористому метилені (30мл) і охолоджували до -78°C. До цього розчину додавали гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (6,1г,

11,7ммоль) і 1-гідроксибензотриазол (1,58г, 11,7ммоль), а потім (S)-(+)-1-циклогексилетиламін, сполуку cлxxv (1,74мл, 11,7ммоль), і діізопропілетиламін (2,1мл, 11,7ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі. Наступного дня реакційну суміш розбавляли етилацетатом, промивали 0,1н. хлористоводневою кислотою, насиченим розчином бікарбонату натрію і розсоллом. Після очищення з використанням 40% етилацетату в гексані одержано сполуку cлxxvi (2г, 47,8%).

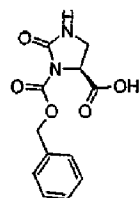


Приклад проміжного продукту 167. Сполука cлxxiii

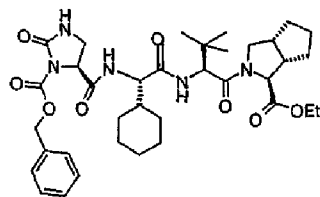
Сполуку cлxxvi (2г, 5,13ммоль) гідрували з використанням 10%-ного паладію на вугіллі (500мг) в метанолі (40мл). Реакційну суміш перемішували протягом ночі в атмосфері водню. Фільтрували суміш через целіт і концентрували. Одержано сполуку cлxxiii (1,31г, 99,8%).

Приклад проміжного продукту 168. Сполука cлxxix

У круглодонній колбі в інертній атмосфері сполуку cлxxvii (1-бензиловий ефір (S)-(-)-2-оксо-1,5-імідазоліндикарбонової кислоти) (290мг, 1,1ммоль)

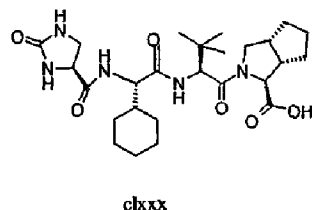


розчиняли в безводному диметилформаміді (6мл). Додавали 1-гідрокси-7-азабензотриазол (151мг, 1,2ммоль) і перемішували реакційну суміш при кімнатній температурі протягом 25хв. Потім охолоджували суміш в бані з льодом. Додавали 1,3-діізопропілкарбодіімід (0,2мл, 0,16г, 1,2ммоль), а потім сполуку cлxxviii (1ммоль, 435мг) в безводному диметилформаміді (4мл). Давали суміші повільно нагріватися до кімнатної температури і перемішували протягом двох діб. Виливали суміш в ділильну лійку, куди попередньо завантажували 120мл етилацетату, і промивали двічі 1н. хлористоводневою кислотою (50мл) і один раз розсоллом. Органічний шар відділяли і сушили над сульфатом магнію. Розчинник випаровували під зниженим тиском, а залишок очищали хроматографією на силікагелі (завантаження в хлористому метилені, елюювання спочатку 30%, потім 50% етилацетату в хлористому метилені і, нарешті, 2% метанолу в етилацетаті). Одержано сполуку cлxxix (434мг, 64%).



Приклад проміжного продукту 169. Сполука cлxxx

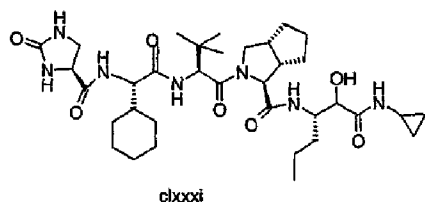
Вихідну сполуку cлxxix (434мг, 0,64ммоль) розчиняли в діоксані (6мл) і 0,5М водному розчині гідроксиду натрію (4мл, Зекв.). Реакція проходила протягом ночі. Хроматографія в тонкому шарі (елюент 100%-ний етилацетат, детектування плям РМА) показала, окрім очікуваного продукту кислотного характеру, що залишається поблизу старту, продукт із підвищеною швидкістю елюювання. Підкислювали реакційну суміш 1н. хлористоводневою кислотою до рН 2 і двічі екстрагували етилацетатом. Для полегшення екстракції до водного розчину додавали твердий хлорид натрію. Органічні екстракти об'єднували, сушили над сульфатом магнію і випаровували під зниженим тиском. Мас-спектроскопічний аналіз показав, що група Cbz відщепилася внаслідок гідролізу. Одержану сполуку cлxxx (вихід кількісний) використовували на наступній стадії без додаткового очищення.



Приклад проміжного продукту 170. Сполука cлxxxi

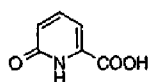
У круглодонній колбі в інертній атмосфері сполуку cлxxx (279мг, 0,54ммоль) розчиняли в безводному диметилформаміді (6мл). Додавали 1-гідрокси-7-азабензотриазол (82мг, 0,65ммоль) і перемішували

реакційну суміш при кімнатній температурі протягом 25хв. Потім охолоджували суміш в бані з льодом. Додавали 1,3-діізопропілкарбодіїмід (0,11мл, 0,65ммоль), а потім сполуку xiii' (0,7ммоль) в безводному диметилформаміді (4мл). Давали суміші повільно нагріватися до кімнатної температури і перемішували протягом 21год. Виливали реакційну суміш в ділильну лійку, куди попередньо завантажували 120мл етилацетату, і промивали двічі 1н. хлористоводневою кислотою (50мл) і один раз розсолем. Органічний шар відділяли і сушили над сульфатом магнію. Розчинник випаровували під зниженим тиском, а залишок очищали хроматографією на силікагелі (завантаження в хлористому метилені, елювання спочатку 50% етилацетату в гексані, потім 3% метанолу в етилацетаті і, нарешті, 20% етанолу в етилацетаті). Після видалення розчинника залишок розчиняли в тетрагідрофурані сорту Dri Solv THF і фільтрували для видалення залишків силікагелю. Після видалення розчинника одержано сполуку cxxxxi (434мг, 64%).

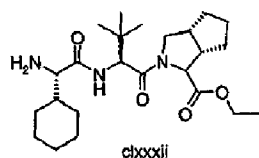


Приклад проміжного продукту 171. Сполука cxxxxii

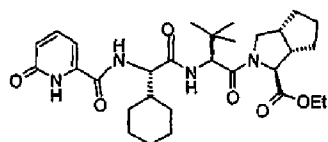
У круглодонній колбі в інертній атмосфері 6-гідроксипіколінкарбонову кислоту (153мг, 1,1ммоль)



розчиняли в безводному диметилформаміді (6мл). Додавали 1-гідрокси-7-азабензотриазол (151мг, 1,2ммоль) і перемішували реакційну суміш при кімнатній температурі протягом 25хв. Потім охолоджували суміш в бані з льодом. Додавали 1,3-діізопропілкарбодіїмід (0,2мл, 0,16г, 1,2ммоль), а потім сполуку cxxxxi (1,0ммоль, 435мг) в безводному диметилформаміді (4мл).

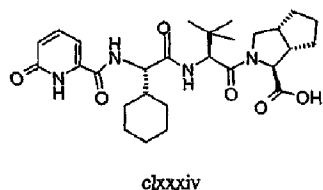


Давали реакційній суміші повільно нагріватися до кімнатної температури і перемішували протягом двох діб. Виливали реакційну суміш в ділильну лійку, куди попередньо завантажували 120мл етилацетату, і промивали двічі 1н. хлористоводневою кислотою (50мл) і один раз розсолем. Органічний шар відділяли і сушили над сульфатом магнію. Розчинник випаровували під зниженим тиском, а залишок очищали хроматографією на силікагелі (завантаження в хлористому метилені, елювання спочатку 30%, потім 50% етилацетату в хлористому метилені і нарешті 2% метанолу в етилацетаті). Одержано сполуку cxxxxiii (314мг, 56%).



Приклад проміжного продукту 172. Сполука cxxxxiv

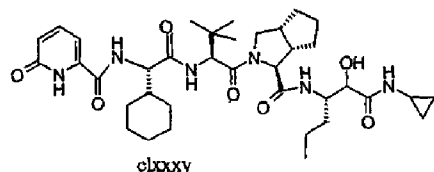
Вихідну сполуку cxxxxii (314мг, 0,56ммоль) розчиняли в діоксані (5мл) і 0,5М водному розчині гідроксиду натрію (3,4мл, 3екв.). Реакція проходила протягом ночі. Хроматографія в тонкому шарі (елюент 100%-ний етилацетат, детектування в ультрафіолетовому світлі) показала повне перетворення в продукт кислотного характеру з повільним елюванням, що залишається поблизу старту. Підкислювали реакційну суміш до pH 2 1н. хлористоводневою кислотою і двічі екстрагували етилацетатом. Для полегшення екстракції до водного розчину додавали твердий хлорид натрію. Органічні екстракти об'єднували, сушили над сульфатом магнію і випаровували під зниженим тиском. Одержану сполуку cxxxxiv (0,5ммоль, 89%) використовували на наступній стадії без додаткового очищення.



Приклад проміжного продукту 173. Сполука cxxxxv

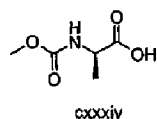
У круглодонній колбі в інертній атмосфері кислотну сполуку cxxxxiv (265мг, 0,5ммоль) розчиняли в безводному диметилформаміді (6мл). Додавали 1-гідрокси-7-азабензотриазол (75,6мг, 0,6ммоль) і

перемішували реакційну суміш при кімнатній температурі протягом 25хв. Потім реакційну суміш охолоджували в бані з льодом. Додавали 1,3-діізопропілкарбодіімід (0,1мл, 0,6ммоль), а потім сполуку xiii' (0,65ммоль) в безводному диметилформаміді (4мл). Давали суміші повільно нагріватися до кімнатної температури і перемішували протягом 21год. Виливали суміш в ділительну лійку, куди попередньо завантажували 120мл етилацетату, і промивали двічі 1н. хлористоводневою кислотою (50мл) і один раз розсоллом. Органічний шар відділяли і сушили над сульфатом магнію. Розчинник випаровували під зниженим тиском, а залишок очищали хроматографією на силікагелі (завантаження в хлористому метилені, елюювання спочатку 50% етилацетату в гексані, потім чистим етилацетатом і нарешті 4% метанолу в етилацетаті). Одержано сполуку clxxxv (185мг, 52%).



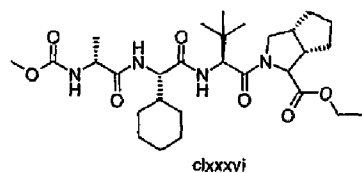
Приклад проміжного продукту 174. Сполука sxxxiv

До розчину D-аланіну (5г, 56,1ммоль) в 1н. розчині гідроксиду натрію (152мл, 152ммоль) додавали при 0°C розчин метилхлорформіату (6,5мл, 84,2ммоль) в діетиловому ефірі (30мл). Суміш перемішували в бані з льодом протягом 3год, а потім 1н. розчином гідроксиду натрію встановлювали pH 9. Після перемішування протягом 1год при кімнатній температурі суміш промивали ефіром (тричі по 50мл), підкислювали 5н. хлористоводневою кислотою до pH 2 і екстрагували етилацетатом (5 разів по 50мл). Органічний екстракт промивали водою і розсоллом і сушили над сульфатом магнію. Після видалення розчинника одержано сполуку sxxxiv, N-метокси-карбоніл-D-аланін, у вигляді безбарвного масла (6,48г, 79%).



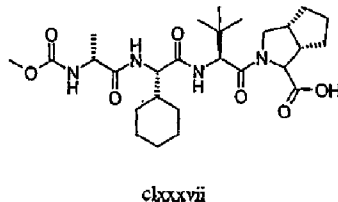
Приклад проміжного продукту 175. Сполука clxxxvi

До розчину N-метоксикарбоніл-D-аланіну (0,193г, 1,31ммоль) і 1-гідрокси-7-азабензотриазолу (0,177г, 1,31ммоль) в хлористому метилені (10мл), охолодженого в бані з льодом, додавали дициклокарбодіімід (1,31мл, 1,31ммоль). Після перемішування протягом 0,5год в бані з льодом додавали розчин сполуки clxxxii (0,88ммоль) в тетрагідрофурані (8,8мл). Суміш підігрівали до кімнатної температури і перемішували протягом ночі, після чого охолоджували в бані з льодом і гасили насиченим розчином бікарбонату натрію. Відділяли осад фільтруванням і розчиняли фільтрат в етилацетаті (100мл). Органічний шар промивали насиченим розчином бікарбонату натрію, розсоллом і сушили над сульфатом магнію. Після видалення розчинника залишок очищали хроматографією на колонці з силікагелем (елюент 60% етилацетату з гексаном). Одержано сполуку clxxxvi у вигляді гумоподібної піни (0,321г, 68%).



Приклад проміжного продукту 176. Сполука clxxxvii

До розчину сполуки clxxxvi (0,321г, 0,597ммоль) в етанолі (5мл) додавали при температурі 5°C 2н. розчин гідроксиду натрію (1,05мл, 2,1ммоль). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 4год. Підкислювали розчин 1н. хлористоводневою кислотою до pH 2 і видаляли етанол в роторному випарнику. Екстрагували суміш етилацетатом (тричі по 30мл), об'єднані екстракти промивали розсоллом і сушили над сульфатом магнію. Видаляли розчинник і сушили залишок у вакуумі. Одержано сполуку clxxxvii у вигляді гумоподібної піни (0,235г, 77%).



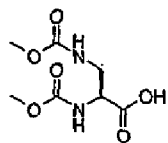
Приклад проміжного продукту 177. Сполука clxxxviii

Розчин сполуки clxxxvii (0,363г, 0,712ммоль) в хлористому метилені (10мл) охолоджували в бані з льодом і обробляли гексафторфосфатом бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (0,594г, 1,14ммоль). Після перемішування при кімнатній температурі протягом 0,5год суміш охолоджували в бані з льодом і обробляли розчином сполуки xiii' (1,1ммоль) в тетрагідрофурані (11мл) і діізопропілетиламіном (0,249мл, 1,42ммоль). Суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі і гасили розчином хлориду амонію. Концентрували суміш і розчиняли її в етилацетаті (100мл). Органічний шар промивали

насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолом і сушили над сульфатом магнію. Після видалення розчинника залишок очищали хроматографією на колонці (елюент 5% етанолу в етилацетаті). Одержано сполуку **clxxxviii** (0,341г, 71%).

Приклад проміжного продукту 178. Сполука **clxxxix**

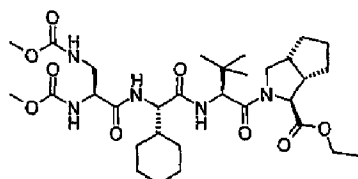
Діамінопропіонову кислоту (3г, 28,7ммоль) розчиняли в 1М розчині гідроксиду натрію (86,2мл, 86,2ммоль) і охолоджували до 0°C, після чого додавали розчин метилхлорформіату (5,54мл, 71,75ммоль) в діетиловому ефірі (25мл). Одержану суміш перемішували протягом ночі при нагріванні до кімнатної температури. Доводили pH реакційної суміші до 2 і тричі екстрагували водний шар етилацетатом. Екстракти об'єднували, сушили над сульфатом натрію, фільтрували і концентрували. Одержано сполуку **clxxxix** (3,09г, 48,9%).



clxxxix

Приклад проміжного продукту 179. Сполука **clxxxx**

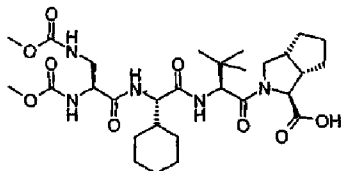
Сполуку **clxxxix** (340мг, 1,55ммоль) розчиняли в хлористому метилені (4мл). Додавали дициклокарбодіімід (1,7ммоль) і 1-гідрокси-7-азабензотриазол (235мг, 1,7ммоль), а потім сполуку **clxxxii** (1,7ммоль) в хлористому метилені (3,4мл). Перемішували реакційну суміш протягом ночі. Наступного дня реакційну суміш фільтрували через шар діоксиду кремнію і концентрували. Після очищення з використанням 75% етилацетату з гексаном одержано сполуку **clxxxx** (715мг, 72,4%).



clxxxx

Приклад проміжного продукту 180. Сполука **clxxxxi**

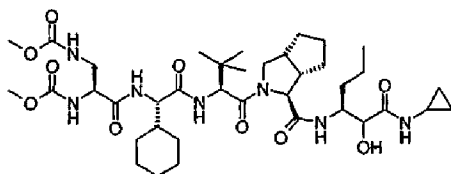
Сполуку **clxxxx** (715мг, 1,12ммоль) гідролізували в стандартних умовах із використанням етанолу (4мл) і 1н. розчину гідроксиду натрію (3екв.). Одержано сполуку **clxxxxi** (600мг, 88%).



clxxxxi

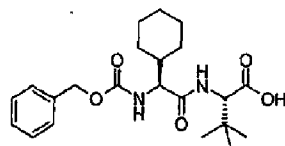
Приклад проміжного продукту 181. Сполука **clxxxxii**

Сполуку **clxxxxi** (550мг, 0,9ммоль) розчиняли в хлористому метилені (8мл). Додавали гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (675мг, 1,3ммоль), а потім розчин сполуки **xiii'** (1,3ммоль) в тетрагідрофурані (1,3мл). Додавали діізопропілетиламін (0,23мл, 1,3ммоль) і перемішували суміш протягом ночі. Наступного дня реакційну суміш розбавляли етилацетатом, промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолом і концентрували. Залишок очищали з елюванням 5% етанолу в етилацетаті. Одержано сполуку **clxxxxii** (290г, 41,5%).



clxxxxii

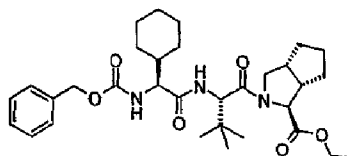
Приклад проміжного продукту 182. Сполука **clxxxxiii** Метильовий складний ефір Cbz-циклогексилгліцин-трет-лейцину (7,36г, 17,6ммоль) гідролізували в стандартних умовах із використанням метанолу (60мл) і 1н. розчину гідроксиду натрію (52,8мл, 3екв.). Одержано проміжний продукт **clxxxxiii** (92%).



c1xxxxxiii

Приклад проміжного продукту 183 (а). Сполука c1xxxxxiv

Сполуку c1xxxxxiii (3,82г, 9,46ммоль) розчиняли в хлористому метилені (30мл). Додавали дициклокарбодіїмід (11,35ммоль) в хлористому метилені (11,35мл), а потім 1-гідрокси-7-азабензотриазол (1,54г, 11,35ммоль). Перемішували суміш 5хв і додавали сполуку v (9,46ммоль) в тетрагідрофурані (40мл). Перемішували реакційну суміш протягом ночі. Наступного дня реакційну суміш розбавляли етилацетатом, промивали 1н. хлористоводневою кислотою, насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем, після чого концентрували, одержуючи залишок. Залишок очищали на силікагелі з використанням градієнтного елюювання (від 20% до 30%). Одержано сполуку c1xxxxxiv (3,03г, 56,3%).



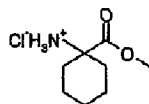
c1xxxxxiv

Приклад проміжного продукту 183 (b). Сполука c1xxxxii

Сполуку c1xxxxxiv (3,03г, 5,33ммоль) гідрували з використанням 10%-ного паладію на вугіллі (500мг) в метанолі (30мл) в атмосфері водню протягом 4год. Одержано сполуку c1xxxxii (2,3г, 99%).

Приклад проміжного продукту 184. Сполука c1xxxxv

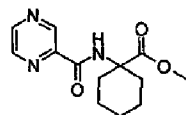
До розчину 1-аміно-1-циклогексанкарбонової кислоти (2,86г, 20ммоль) в метанолі (40мл) додавали крапля за краплею тіонілхлорид (3мл) при 0°C. Повільно нагрівали суміш до кімнатної температури, а потім нагрівали зі зворотним холодильником протягом 5год. До прозорого розчину додавали потім діетиловий ефір і відділяли осад фільтруванням. Одержаний твердий продукт сушили у вакуумі. Одержано сполуку c1xxxxv (95%) у формі білого порошку.



c1xxxxv

Приклад проміжного продукту 185. Сполука c1xxxxxvi

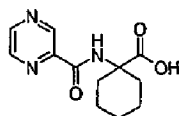
2-піразинкарбонову кислоту (1г, 8ммоль, 1 екв.) розчиняли в хлористому метилені (15мл) і додавали 1-гідрокси-7-азабензотриазол (1,1г, 8ммоль) і дициклокарбодіїмід (1М розчин, 8мл) в хлористому метилені. Після перемішування при кімнатній температурі протягом 20хв до активованої суміші додавали сполуку c1xxxxv (1,3г, 8ммоль). Потім послідовно додавали діізопропілетиламін (2мл, 12ммоль) і 4-(N,N-диметиламіно)піридин (1,5г, 12ммоль). Після перемішування протягом 3 діб при кімнатній температурі реакційну суміш фільтрували через целіт, концентрували і очищали цільовий продукт хроматографією на колонці (елюент 50% етилацетату з гексаном). Одержано сполуку c1xxxxxvi (2,1г, 100%) у вигляді жовтого масла.



c1xxxxxvi

Приклад проміжного продукту 186. Сполука c1xxxxxvii

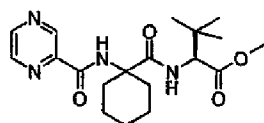
Сполуку c1xxxxxvi (1,06г, 2,6ммоль) розчиняли в метанолі (30мл) із додаванням 2н. водного розчину гідроксиду натрію (12мл, 24ммоль). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі, після чого хроматографія в тонкому шарі (елюент 50% етилацетату з гексаном) посвідчила повноту гідролізу. Потім розчин підкислювали до pH 3-5н. хлористоводневою кислотою, розбавляли етилацетатом і екстрагували органічний шар. Промивали органічний шар розсолем і сушили над сульфатом магнію. Після концентрування одержано сполуку c1xxxxxvii (84%).



c1xxxxxvii

Приклад проміжного продукту 187. Сполука c1xxxxxviii

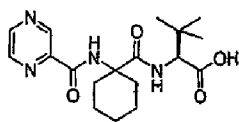
Сполуку сіххххvii (1,6г, 6,4ммоль) розчиняли в хлористому метилені (18мл) і послідовно додавали при кімнатній температурі 1-гідрокси-7-азабензотриазол (0,96г, 7ммоль) і дициклокарбодіімід (1М розчин в хлористому метилені, 7мл). Після перемішування при кімнатній температурі протягом 20хв до активованої суміші додавали гідрохлорид метилового складного ефіру L-трет-лейцину (7мл 1М розчину в тетрагідрофурані). Потім послідовно додавали діізопропілетиламін (1,2мл, 7ммоль) і 4-(N,N-диметиламіно)піридин (1,2г, 9,8ммоль). Після перемішування протягом 3 діб при кімнатній температурі реакційну суміш фільтрували через целіт, очищали хроматографією на колонці (елюент 60% етилацетату з гексаном) і концентрували. Одержано сполуку сіххххviii (1,74г, 72%) у вигляді білої твердої речовини



cixxxix

Приклад проміжного продукту 188. Сполука сіс

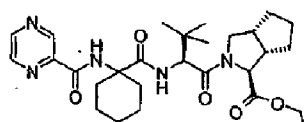
Сполуку сіххххviii (1,74г, 4,6ммоль) розчиняли в метанолі (22мл) із додаванням 2н. водного розчину гідроксиду натрію (7мл, 14ммоль). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі, після чого хроматографія в тонкому шарі (елюент 50% етилацетату з гексаном) посвідчила повноту гідролізу. Потім розчин підкислювали 5н. хлористоводневою кислотою до рН 3, розбавляли етилацетатом і екстрагували органічний шар. Промивали органічний шар розсолон і сушили над сульфатом магнію. Після концентрування одержано сполуку сіс (100%).



сіс

Приклад проміжного продукту 189. Сполука сс

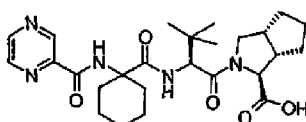
До розчину сполуки сіс (1,5г, 4,1ммоль) в хлористому метилені (15мл) додавали при кімнатній температурі 1-гідрокси-7-азабензотриазол (610мг, 4,5ммоль), а потім 1М розчин дициклокарбодіімиду в хлористому метилені (4,5мл, 4,5ммоль). Після перемішування протягом 30хв при кімнатній температурі додавали розчин сполуки v в тетрагідрофурані (0,2М, 20мл, 4ммоль). Перемішували реакційну суміш протягом ночі при кімнатній температурі. Потім фільтрували суміш через целіт. Фільтрат концентрували, одержуючи жовте масло, яке очищали хроматографією на силікагелі (елюент 50% етилацетату в гексані). Одержано сполуку сс (660мг, 32%).



сс

Приклад проміжного продукту 190. Сполука ссі

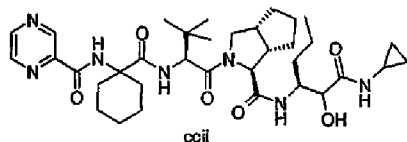
До розчину сполуки сс (600мг, 1,13ммоль) в етанолі (6мл) додавали 2н. водний розчин гідроксиду натрію (1,7мл, 3,4ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 2год, потім підкислювали 5н. хлористоводневою кислотою до рН 3, розбавляли етилацетатом і екстрагували органічний шар. Промивали органічний шар розсолон і сушили над сульфатом магнію. Після концентрування одержано сполуку ссі (92%).



ссі

Приклад проміжного продукту 191. Сполука ссіі

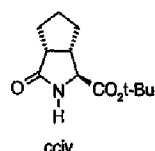
До розчину сполуки ссі (310мг, 0,62ммоль) в хлористому метилені (8мл) додавали гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (420мг, 0,8ммоль). Перемішували суміш при кімнатній температурі протягом 30хв. Потім до розчину додавали розчин сполуки хііі' в тетрагідрофурані (0,1М, 8мл), а потім діізопропілетиламін (0,23мл, 1,3ммоль). Перемішували реакційну суміш протягом ночі при кімнатній температурі, потім гасили водою (25мл) протягом 30хв. Екстрагували суміш етилацетатом. Органічний шар промивали розсолон, сушили над сульфатом магнію і концентрували, одержуючи жовте масло. Після очищення хроматографією на силікагелі (елюент 3% етанолу в етилацетаті) одержано сполуку ссіі (140мг, 33%).



Приклад проміжного продукту 192. Сполука cciv

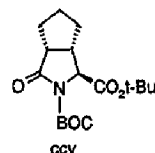
До розчину сполуки ccii, трет-бутилового складного ефіру (N-дифенілметилєн)-гліцину (6г, 0,0206моль) і хірального каталізатора переносу фази (1,08г, 0,00206моль) в безводному хлористому метилєні (48мл) додавали в атмосфері азоту при -60°C гідрат гідроксиду цєзію (6,9г, 0,0412моль). До реакційної суміші додавали крапля за краплею метиловий складний ефір 1-карбоксі-1-циклопєнтєну (5,2мл, 0,0412моль) в 10мл хлористого метилєну. Суміш перемішували протягом 4 діб при -60°C, потім розбавляли 200мл дієтилового ефіру і додавали 15мл насиченого водного розчину хлориду амонію. Розділяли фази і промивали органічну фазу 15мл води і 15мл розсолу. Водні фази екстрагували 100мл дієтилового ефіру. Органічні фази об'єднували і сушили над сульфатом натрію. Неочищений продукт, одержаний після видалення розчинника, розчиняли в 100мл етанолу і додавали гідрохлорид гідроксиламіну (1,43г, 0,0206моль) і ацетат натрію (1,68г, 0,0206моль). Суміш нагрівали зі зворотним холодильником протягом 48год. Потім розчинник видаляли, а одержаний неочищений залишок очищали флєш-хроматографією з елюванням 30-50% етилацетату в гєксані. Одержано сполуку cciv (65%) у вигляді твердої білої речовини.

C₁₂H₁₉NO₃ (мол. маса 225,29). Мас-спектр: m/z (M⁺+1)=226,5. Енантіомєрний надлишок 18% (визначений хіральною PXBE).



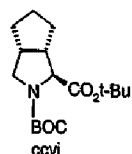
Приклад проміжного продукту 193. Сполука ccv

До розчину сполуки cciv (2г, 0,0088моль) в 60мл ацетонітрилу додавали каталітичну кількість 4-(N,N-димєтиламіно)піридину (0,216г, 0,0017моль) і розчин ди-трет-бутил-дикарбонату (2,49г, 0,011моль) в 30мл ацетонітрилу. Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 14год, потім розбавляли 100мл хлористого метилєну і промивали насиченим розчином бікарбонату натрію (10мл) і розсолу (10мл). Органічну фазу сушили над сульфатом натрію. Після випаровування розчинника одержано неочищений продукт, який очищали на колонці з силікагєлем (єлюєнт 15% етилацетату в гєксані). Одержано сполуку ccv (86%) у вигляді твердої білої речовини. C₁₇H₂₇NO₅ (мол. маса 325,40). Мас-спектр: m/z (M⁺+1)=326,2.



Приклад проміжного продукту 194. Сполука ccvi

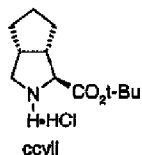
До розчину сполуки ccv (1,7г, 0,0052моль) в 50мл тетрагідрофурану (0,14М) додавали при -78°C гідрид діізобутилалюмінію (7,8мл, 0,0078моль). Суміш перемішували протягом 1год, потім додавали 10мл метанолу. Розбавляли суміш 25мл етилацетату і 25мл насиченого водного розчину тартрату натрію, після чого перемішували протягом 1год при кімнатній температурі. Розділяли фази і екстрагували водну фазу один раз 50мл етилацетату. Об'єднували органічні фази і сушили над сульфатом натрію. Після випаровування розчинника одержано неочищений залишок, який використовували без очищення. Цей залишок розчиняли в 25мл хлористого метилєну, додавали триєтилсилан (0,84мл, 0,0052моль), охолоджували суміш до -78°C і додавали крапля за краплею комплекс трифториду бору з дієтиловим ефіром (0,71мл, 0,0061моль). Через 30хв додавали триєтилсилан (0,84мл) і комплекс трифториду бору з дієтиловим ефіром (0,71мл) і перемішували суміш при -78°C протягом 2год. Реакцію гасили насиченим водним розчином бікарбонату натрію (10мл) і екстрагували суміш хлористим метилєном (двічі по 20мл). Органічні фази об'єднували і сушили над сульфатом натрію. Після випаровування розчинника одержано неочищений залишок, який очищали флєш-хроматографією з елюванням 13% етилацетату в гєксані. Одержано сполуку ccvi (87%). C₁₇H₂₉NO₄ (мол. маса 311,42). Мас-спектр: m/z (M⁺+1)=312,6.



Приклад проміжного продукту 195. Сполука ccvii

Сполуку ccvi (0,5г, 0,0016моль) розчиняли в 8мл 1н. розчину хлороводню в етилацетаті (виготовленого шляхом пропускання сухого хлороводню через безводний етилацетат із подальшим розведенням до 1н. концентрації додатковим етилацетатом). Перемішували суміш при кімнатній температурі протягом 6год. Видаляли розчинник у вакуумі і розчиняли одержаний осад в дієтиловому ефірі. Після 15-хвилинного перемішування видаляли розчинник під зниженим тиском. Одержану білу тверду речовину промивали

діетиловим ефіром і відділяли сполуку ccvii (0,27г, вихід 80%) фільтруванням. $C_{12}H_{21}NO_2$ (мол. маса 211,15). Мас-спектр: m/z (M^++1)=212,6.

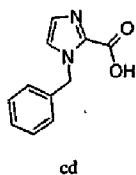


Приклад проміжного продукту 196. Сполука v

До розчину сполуки ccvii (0,230г, 0,74ммоль) в хлористому метилені (3,7мл) додавали трифтороцтову кислоту (2,85мл). Суміш перемішували протягом ночі, потім розчинник видаляли у вакуумі досуха і розчиняли залишок в етанолі (7,5мл). Охолоджували суміш до 0°C і додавали крапля за краплею тіонілхлорид (0,22мл, 2,96ммоль), після чого нагрівали суміш зі зворотним холодильником протягом 2год. Видаляли етанол під зниженим тиском і розчиняли залишок у хлористому метилені (10мл). Одержаний розчин двічі промивали насиченим водним розчином бікарбонату натрію (5мл). Розділяли фази, сушили органічну фазу над сульфатом натрію і видаляли розчинник у вакуумі. Одержано сполуку v (80%) у вигляді масла. $C_{10}H_{17}NO_2$ (мол. маса 183,25). Мас-спектр: m/z (M^++1)=184,2.

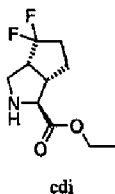
Приклад проміжного продукту 197. Сполука cd

1-бензилімідазол (6г, 37,9ммоль) розчиняли в діетиловому ефірі (180мл). Охолоджували розчин до -60°C і обробляли н-бутиллітієм (1,6М, 24мл). Перемішували суміш 30хв і потім пропускали через неї діоксид вуглецю протягом 15хв. Осад відділяли фільтруванням, промивали діетиловим ефіром і розчиняли у воді. Цей водний розчин підкислювали 5н. хлористоводневою кислотою до pH 3. Цільовий продукт, сполуку cd, одержано після ліофілізації у формі твердої білої речовини.



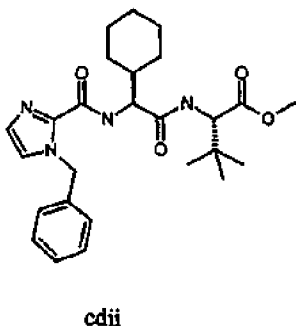
Приклад проміжного продукту 198. Сполука cdi

Розчин сполуки i (9,25г, 27,9ммоль) обробляли при 0°C трифторидом (диметиламіно)сірки (9,2мл, 69,8ммоль). Після перемішування протягом ночі при кімнатній температурі реакцію гасили льодом і екстрагували суміш хлористим метиленом (200мл). Органічний шар промивали розсолем і концентрували у вакуумі. Залишок очищали хроматографією на силікагелі (елюент 30% етилацетату в гексані). Одержано 8,5г (86%) цільового фторованого проміжного продукту. Частину цього продукту (4,5г, 14,2ммоль) розчиняли в етанолі (75мл). Цей розчин піддавали гідруванню в стандартних умовах із використанням гідроксиду паладію на вугіллі (2,98г, вміст паладію 20%, 4,26ммоль). Після перемішування протягом ночі при кімнатній температурі реакційну суміш фільтрували через целіт. Фільтрат концентрували у вакуумі. Одержано сполуку cdi (2,5г, 96%).



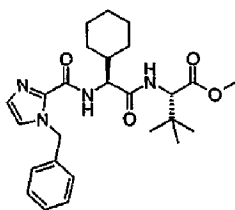
Приклад проміжного продукту 199. Сполука cdii

До розчину сполуки cd (890мг, 4,4ммоль) в хлористому метилені (15мл) додавали 1-гідроксибензотриазол (595мг, 4,4ммоль) і дициклокарбодіімід (1М розчин в хлористому метилені, 4,4ммоль) і перемішували протягом 20хв. Додавали розчин сполуки lxxix' (990мг, 3,5ммоль) в хлористому метилені (15мл). Реакційну суміш перемішували протягом ночі в атмосфері азоту. Розбавляли суміш етилацетатом, промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Органічний шар концентрували у вакуумі, одержуючи залишок, який очищали з використанням 30% етилацетату в гексані. Одержано сполуку cdii (666мг, 41%).



Приклад проміжного продукту 200. Сполука cdiii

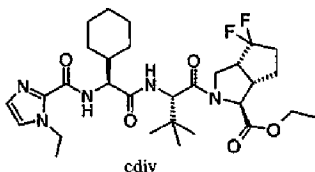
Сполуку cdiii одержано зі сполуки cdi в стандартних умовах гідролізу з використанням метанолу (10мл) і 1н. розчину гідроксиду натрію (3екв.). Одержано 565мг сполуки cdiii (88%).



cdiii

Приклад проміжного продукту 201. Сполука cdiv

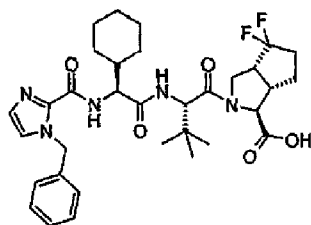
Сполуку cdiii (1,24ммоль) розчиняли в хлористому метилені (5мл). Додавали дициклокарбодіїмід (1,6ммоль, 1М розчин в хлористому метилені), а потім 1-гідрокси-7-азабензотриазол (1,6ммоль). Одержану суміш перемішували 20хв і додавали крапля за краплею розчин сполуки cdi (1,6ммоль) в тетрагідрофурані (8мл). Перемішували реакційну суміш протягом ночі, фільтрували і промивали осад етилацетатом. Об'єднані органічні шари промивали насиченим розчином бікарбонату натрію, розсоллом, сушили над сульфатом магнію і концентрували. Після очищення (30% етилацетату в гексані) одержано сполуку cdiv (565мг, 70%).



cdiv

Приклад проміжного продукту 202. Сполука cdv

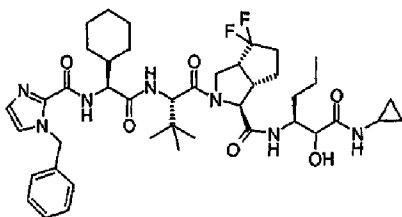
Сполуку cdv одержано зі сполуки cdiv (565мг, 0,86ммоль) в стандартних умовах гідролізу з використанням етанолу (10мл) і 1н. розчину гідроксиду натрію (3екв.). Одержано 490мг сполуки cdv (91%).



cdv

Приклад проміжного продукту 203. Сполука cdvi

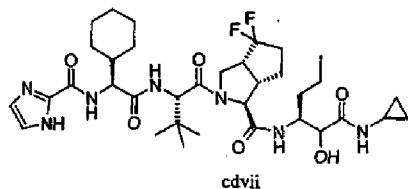
Сполуку cdv (490мг, 0,78ммоль) розчиняли в хлористому метилені (10мл). До цього розчину додавали гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (520мг, 1ммоль), а потім розчин сполуки xii (186мг, 1ммоль) в тетрагідрофурані (10мл). Додавали до реакційної суміші діізопропілетиламін (0,18мл, 1ммоль) і перемішували суміш протягом ночі в атмосфері азоту. Наступного дня суміш розбавляли етилацетатом, промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і розсоллом. Після очищення (100%-ний етилацетат) одержано сполуку cdvi (478мг, 77%).



cdvi

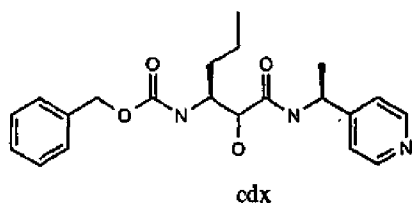
Приклад проміжного продукту 204. Сполука cdvii

Сполуку cdvi (478мг, 0,6ммоль) гідрували з використанням гідроксиду паладію на вугіллі (20% в розрахунку на суху речовину, 100мг) в метанолі (40мл). Реакційну суміш перемішували протягом ночі в атмосфері водню. Потім суміш фільтрували через целіт і концентрували. Одержано сполуку cdvii (417мг, 98%).



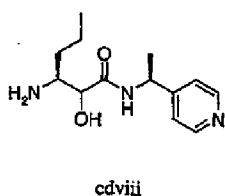
Приклад проміжного продукту 205. Сполука cdx

Сполуку scxxv (продукт фірми Albany Molecular Research, Inc.) (1,5г, 2,2ммоль) розчиняли в хлористому метилені (15мл). До розчину додавали гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-окситрис-піролідіно-фосфонію (2,7г, 5,2ммоль) і 1-гідроксибензотриазол (700мг, 5,2ммоль). До суміші додавали розчин (-)- α -(4-піридил)-етиламіну (640мг, 5,2ммоль) в тетрагідрофурани (15мл), а потім діізопропілетиламін (0,93мл, 5,2ммоль). [(-)- α -(4-піридил)етиламін одержано з тартрату (-)- α -(4-піридил)-етиламіну (продукт фірми Aldrich) перемішуванням з 1н. розчином гідроксиду натрію (2 екв.) протягом 1год з подальшим екстрагуванням етилацетатом (тричі); вихід 70%]. Перемішували суміш протягом ночі при кімнатній температурі, промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і розсолем. Продукт очищали з використанням 5% етанолу в етилацетаті. Одержано 2г (99%) проміжного продукту cdx.



Приклад проміжного продукту 206. Сполука cdviii

Сполуку cdx (2г, 5,2ммоль) гідували з використанням 10%-ного паладію на вугіллі (500мг) в метанолі (50мл). Реакційну суміш перемішували протягом ночі в атмосфері водню. Потім суміш фільтрували через целіт і концентрували. Одержано сполуку cdviii (1,3г, 98%).



Фармакологія

Сполуки, надані цим винаходом, описані в даному документі як корисні з точки зору їх здатності інгібувати протеазу HCV є, таким чином, корисними також для інгібування реплікації HCV.

Відповідно, один з описаних винаходів стосується способу інгібування протеази HCV, який включає введення сполуки формули 1 у кількості, що забезпечує інгібування протеази HCV, з композицією, яка має в своєму складі протеазу HCV.

Інший описаний винахід стосується способу інгібування реплікації HCV, який включає введення HCV в контакт з ефективною кількістю сполуки формули 1. Далі, ще один описаний винахід стосується способу лікування пацієнта, що страждає на інфекцію HCV або піддається такій інфекції, який включає введення в організм згаданого пацієнта фармацевтично ефективної кількості сполуки формули 1. Посилання на лікування інфекції HCV в цьому описі слід розуміти як такі, що охоплюють профілактичну терапію, спрямовану на запобігання або інгібування згаданої інфекції, а також лікування встановленої гострої або хронічної інфекції HCV або фізіологічних станів, пов'язаних з інфекцією HCV, з метоювилікування пацієнта від згаданої інфекції, зменшення ступеню тяжкості інфекції або покращення фізіологічних станів, пов'язаних із такою інфекцією. Термін "ефективна кількість" вживається для позначення кількості сполуки, наданої цим винаходом, ефективною з точки зору здорового біологічного глазду, придатну для застосування в контакті із клітинами тканин людини та інших ссавців без небажаної токсичності, подразнення, алергічної реакції тощо, і сумірну з розумним значенням відношення перевага/ризик при лікуванні інфекції HCV і, отже, такої, що забезпечує бажаний терапевтичний ефект.

Фізіологічні стани, які розглядаються в цьому описі, включають деякі (але не всі) можливі клінічні ситуації, де є виправданим лікування, спрямоване проти HCV. Обізнаним фахівцям добре відомі обставини, за яких необхідне лікування проти HCV.

Конкретним аспектом цього винаходу є сполука згідно з винаходом, призначена для застосування у формі фармацевтичної композиції, хоча згадана сполука може застосовуватися і окремо. Термін "фармацевтична композиція" означає композицію, яка містить сполуку формули 1 і щонайменше один компонент, вибраний із групи, яка охоплює фармацевтично прийнятні носії, розріджувачі, покривні матеріали, ад'юванти, ексципієнти або наповнювачі, наприклад, консерванти, заповнювачі, дезінтегратори, змочувальні агенти, емульгатори, стабілізатори емульсій, суспендувальні агенти, ізотонічні агенти, підсолоджувальні агенти, коригенти, ароматизуючі агенти, барвники, антибактеріальні агенти, протигрибкові агенти, інші терапевтичні агенти, змашувальні агенти, агенти затримання адсорбції або промотори адсорбції та розподільні агенти, залежно від природи та способу вживання і форм дозування. Згадані композиції можуть бути виготовлені у формі таблеток, пілюль, гранул, порошків, водних розчинів або суспензій, розчинів для ін'єкцій, еліксирів або сиропів. Прикладами суспендувальних агентів є етоксильовані

ізостеарилові спирти, складні ефіри поліоксєтилену з сорбітом та сорбітаном, мікрокристалічна целюлоза, метатідроксид алюмінію, бентоніт, агар-агар і трагант або суміші цих речовин. Прикладами антибактеріальних та протигрибкових агентів для запобігання дії мікроорганізмів є парабени, хлорбутанол, фенол, сорбінова кислота тощо. Прикладами ізотонічних агентів є цукри, хлорид натрію тощо. Прикладами агентів, що затримують адсорбцію і застосовуються для пролонгації поглинання, є моностеарат алюмінію і желатин. Прикладами промоторів адсорбції, що застосовуються для прискорення поглинання, є диметилсульфоксид і його аналоги. Прикладами носіїв, розріджувачів, розчинників, наповнювачів, солюбілізаторів, емульгаторів та стабілізаторів емульсій є вода, хлороформ, сахароза, етанол, ізопропіловий спирт, етилкарбонат, етилацетат, бензиловий спирт, тетрагідротурфіловий спирт, бензилбензоат, поліолі, пропіленгліколь, 1,3-бутиленгліколь, гліцерин, поліетилєнгліколі, диметилформамід, Tween® 60, Span® 80, цетостеариловий спирт, міристиловий спирт, гліцерилмоностеарат і лаурилсульфат натрію, складні ефіри жирних кислот з сорбітом, рослинні олії (наприклад, бавовняна олія, арахісова олія, кукурудзяна олія, оливкова олія, касторова олія і кунжутна олія) і придатні для ін'єкцій органічні складні ефіри, наприклад, етілолеат, тощо, або відповідні суміші цих речовин. Прикладами ексципієнтів є лактоза, молочний цукор, цитрат натрію, карбонат кальцію, дикальційфосфат. Прикладами дезінтеграторів є крохмаль, альгінові кислоти і певні комплексні силікати. Прикладами змащувальних агентів є стеарат магнію, лаурилсульфат натрію, тальк, а також високомолекулярні поліетилєнгліколі.

В комбінації зі сполуками, наданими цим винаходом, можуть застосовуватися інші терапевтичні агенти, в тому числі інші агенти, активні проти HCV. Деякими прикладами відомих агентів, активних проти HCV, є імунотуляторні агенти, наприклад, α -, β - та γ -інтерферони; пегільовані дериватизовані сполуки α -інтерферону, інші противірусні агенти, наприклад, рибавірин та амантадин; інші інгібітори протеази гепатиту С; інгібітори інших чинників життєвого циклу HCV, в тому числі гелікази, полімерази, металопротеази, внутрішнього агента входження рибосоми, або противірусні сполуки широкого профілю, наприклад, VX-497, інгібітор монофосфат-дегідрогенази клітинного інозину (IMPDH), описаний в [патенті США №5,807,876]; або їх комбінації. Терапевтичні агенти, які вживаються в комбінації за сполуками, наданими цим винаходом, можуть вживатися окремо, одночасно або послідовно.

Вибір матеріалів фармацевтичної композиції, відмінних від сполуки формули 1, як правило, визначається хімічними властивостями активної сполуки, наприклад, її розчинністю, конкретним способом застосування та умовами, яких слід дотримуватися в фармацевтичній практиці. Наприклад, для виготовлення таблеток можна застосовувати наповнювачі, наприклад, лактозу, цитрат натрію, карбонат кальцію, дикальційфосфат, та дезінтегратори, наприклад, крохмаль, альгінові кислоти та певні комплексні силікати в комбінації зі змащувальними агентами, наприклад, стеаратом магнію, лаурилсульфатом натрію і тальком.

Фармацевтичні композиції можуть виготовлятися в різноманітних формах, наприклад, у формі таблеток, пілюль, гранул, порошків, водних розчинів або суспензій, розчинів для ін'єкцій, еліксирів або сиропів.

Термін "рідка дозована лікарська форма" означає, що доза активної сполуки, призначена для введення в організм пацієнта, знаходиться в рідкій формі. Такими формами є, наприклад, фармацевтично прийнятні емульсії, розчини, суспензії, сиропи та еліксири. Крім активної сполуки, рідкі дозовані лікарські форми можуть містити інертні розріджувачі, звичайно застосовувані в практиці, розчинники, солюбілізатори та емульгатори.

Тверді сполуки можуть застосовуватися також для заповнення м'яких та твердих желатинових капсул із використанням таких наповнювачів, як лактоза або молочний цукор, а також високомолекулярних поліетилєнгліколів тощо.

В разі застосування водних суспензій вони можуть містити емульгатори або агенти, які полегшують суспендування.

Масляна фаза фармацевтичної композиції у формі емульсії може складатися з відомих інгредієнтів і виготовлятися відомим способом. Хоча така фаза може містити лише один емульгатор (вживається також термін "емульгант"), доцільно, щоб він містив суміш щонайменше одного емульгатора з жиром або олією, або з жиром та олією. Перевага віддається застосуванню гідрофільного емульгатора спільно з ліпофільним емульгатором, який діє як стабілізатор. Перевага віддається також спільному застосуванню жиру та олії. Емульгатор (емульгатори) спільно з стабілізатором (стабілізаторами) або без них утворюють емульгувальний віск, а останній спільно з олією та жиром утворює емульсійну основу мазей, яка утворює масляну дисперсну фазу рецептур у формі кремів.

При бажанні водна фаза кремової основи може містити, наприклад, щонайменше 30% (мас.) багатотомного спирту, тобто спирту, який містить дві або більше гідроксильні групи, наприклад, пропіленгліколю, бутан-1,3-діолу, маніту, сорбіту, гліцерину та поліетилєнгліколю (в тому числі ПЕГ-400) та їх сумішей. В композиції для місцевого застосування доцільно вводити сполуку, що покращує абсорбцію або проникнення активного інгредієнта через шкіру або інші уражені тканини.

Вибір придатних жирів та олій для композиції базується на досягненні бажаних косметичних властивостей. Так, наприклад, доцільно, щоб крем був не жирним, не залишав плям і легко змивався, маючи при цьому відповідну консистенцію для запобігання витіканню з туб або інших контейнерів. Можна застосовувати складні моноєфіри або дієфіри лінійної або розгалуженої будови, наприклад, діізопропілміристант, децилолеат, ізопропілпальмітант, бутілстеарат, 2-етилгексилпальмітант або суміш розгалужених складних ефірів, відомих під назвою Crodamol CAP. Вони можуть застосовуватися поодиночі або в комбінаціях, залежно від потрібних властивостей. Альтернативним варіантом є застосування високоплавких ліпідів, наприклад, білого м'якого парафіну, та/або вазелинового масла або інших мінеральних масел.

У практиці сполуки та фармацевтичні композиції, надані цим винаходом, можна вводити в організм людей та тварин у вигляді придатних лікарських форм місцевим або системним шляхами, в тому числі пероральним, інгаляційним, ректальним, назальним, букальним, під'язичним, вагінальним, кишковим, парентеральним (в тому числі підшкірним, внутрішньом'язовим, внутрішньовенним, внутрішньошкірним,

підоболонковим та епідуральним), внутрішньопорожнинним та внутрішньоочеревинним способами. Мається на увазі, що шлях введення, якому віддається перевага, може варіювати, наприклад, залежно від стану пацієнта.

Термін "фармацевтично прийнятні дозовані форми" стосується дозованих форм сполук, наданих цим винаходом, і охоплює, наприклад, таблетки, драже, порошки, еліксири, сиропи, рідкі препарати, в тому числі суспензії, спреї, інгаляційні таблетки, пастилки, емульсії, розчини, гранули, капсули і супозиторії, а також рідкі препарати для ін'єкцій, в тому числі ліпосомні препарати. Способи та склади препаратів можна знайти в [монографії Ремінгтона "Фармацевтичні науки" (Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publ. Co., Easton, PA)].

"Лікарські форми, придатні для перорального вживання" можуть являти собою дискретні одиниці, наприклад, капсули, облатки або таблетки, кожна з яких містить наперед визначену кількість активного інгредієнта; порошки або гранули; розчини або суспензії у водній або неводній рідині; або рідкі емульсії типу "масло в воді" або "вода в маслі". Активний інгредієнт може міститися також в болюсі, кашці або пасті.

Таблетки можна виготовляти пресуванням або формуванням, факультативно з використанням одного або кількох допоміжних інгредієнтів. Пресовані таблетки можна виготовляти шляхом пресування у придатному механічному пристрої активного інгредієнта у текучій формі, наприклад, порошку або гранул, факультативно змішаних із в'язким, змащувальним агентом, інертним розріджувачем, консервантом, поверхнево-активним або диспергувальним агентом. Формовані таблетки можна виготовляти шляхом формування у придатному механічному пристрої суміші порошкоподібних сполук, зволжених інертним рідким розріджувачем. Таблетки можуть бути факультативно вкриті оболонкою або мати на поверхні насічку і можуть мати склад, що забезпечує сповільнене або контрольоване вивільнення активного інгредієнта.

До твердих композицій для ректального введення належать супозиторії, виготовлені згідно з відомими способами, що містять щонайменше одну сполуку, надану цим винаходом.

При бажанні і з метою більш ефективного розподілу сполуки можуть бути введені в мікрокапсули, що складаються з систем для пролонгованого вивільнення або цільового постачання, або з'єднані з такими системами, наприклад, з біосумісними полімерними матрицями, що піддаються біодеструкції (наприклад, полі-(d,l-лактид-когліколідом)), ліпосомами та мікросферами, і введені в організм підшкірним або внутрішньом'язовим шляхом із застосуванням способу, що зветься створенням підшкірного або внутрішньом'язового депо, для забезпечення безперервного повільного вивільнення сполуки (сполук) протягом 2 тижнів або довше. Сполуки можна стерилізувати, наприклад, шляхом фільтрування через бактеріальні фільтри або введенням стерилізовувальних агентів у стерильні тверді композиції, які можна розчиняти в стерильній воді або іншому стерильному середовищі для ін'єкцій безпосередньо перед вживанням.

Термін "Лікарські форми, придатні для назального або інгаляційного вживання" означає лікарські форми, придатні для введення в організм пацієнта назальним шляхом або за допомогою інгаляції. Така лікарська форма може містити носій у формі порошку, що має розмір частинок, наприклад, в діапазоні від 1мкм до 500мкм (в тому числі піддіапазони розмірів частинок від 20мкм до 500мкм з прирістом по 5мкм, наприклад, 30мкм, 35мкм тощо). До придатних лікарських форм, де носій є рідиною, призначених, наприклад, для введення у вигляді назального спрею або крапель для носа, належать водні або масляні розчини активного інгредієнта. Лікарські форми, призначені для застосування у вигляді аерозолів, можна виготовляти звичайними способами і вводити з іншими терапевтичними агентами. Інгаляційну терапію легко здійснити з застосуванням дозованих інгаляторів.

Термін "Лікарські форми, придатні для перорального застосування" означає лікарські форми, придатні для введення в організм пацієнта пероральним шляхом. Такі лікарські форми можуть являти собою дискретні одиниці, наприклад, капсули, облатки або таблетки, кожна з яких містить наперед визначену кількість активного інгредієнта; порошок або гранули; розчини або суспензії у водній або неводній рідині; або рідкі емульсії типу "масло в воді" або "вода в маслі". Активний інгредієнт може міститися також в болюсі, кашці або пасті.

Термін "Лікарські форми, придатні для парентерального застосування" означає лікарські форми, придатні для введення в організм пацієнта парентеральним шляхом. Такі лікарські форми є стерильними; до них належать емульсії, суспензії, водні та неводні розчини для ін'єкцій, які можуть містити суспензатори та загусники і антиоксиданти, буферні сполуки, бактеріостатики і розчинені речовини, які надають лікарській формі ізотонічності із кров'ю пацієнта, і мати відповідним чином встановлене значення pH.

Термін "Лікарські форми, придатні для ректального або вагінального застосування" означає лікарські форми, придатні для введення в організм пацієнта ректальним або вагінальним шляхом. Перевага віддається лікарським формам у вигляді супозиторіїв, які можна виготовляти шляхом змішування сполук, наданих цим винаходом, із придатними не подразливими наповнювачами або носіями, наприклад, із какаоовою олією, поліетиленгліколем або з воском для супозиторіїв, які є твердими при кімнатній температурі, але рідкими при температурі тіла і, отже, плавляться в прямій кишці або вагінальній порожнині пацієнта, вивільнюючи активний компонент.

Термін "Лікарські форми, придатні для системного застосування" означає лікарські форми, придатні для введення в організм пацієнта системним способом. Перевага віддається лікарським формам, які вводяться в організм шляхом ін'єкцій, в тому числі внутрішньом'язовим, внутрішньовенним, внутрішньоочеревинним та підшкірним способами. Для ін'єкцій сполуки, надані цим винаходом, вводять у рідкі розчини, при цьому перевага віддається фізіологічно сумісним буферним розчинам, наприклад, розчинам Ганка або Рінгера. Крім того, згадані сполуки можна виготовляти у вигляді твердих речовин і розчиняти або суспендувати безпосередньо перед застосуванням. До таких форм належать також ліофілізовані речовини. Системне застосування можна здійснювати також черезоболонковим або черезшкірним шляхами, або сполуки можуть застосовуватись орально. Для застосування черезоболонковим або черезшкірним шляхами в лікарську форму вводяться пенетранти, які відповідають конкретним бар'єрам, що через них речовина має проникнути. Такі пенетранти відомі в практиці, і до них належать, наприклад, солі жовчних кислот і похідні фузидинової кислоти для введення в організм через слизові оболонки. Крім того, для сприяння

проникненню можна застосовувати поверхнево-активні сполуки. Введення в організм через слизові оболонки можна здійснювати, наприклад, із застосуванням назальних спреїв або супозиторіїв. Для перорального вживання сполуки можна вводити до складу звичайних пероральних лікарських форм, наприклад, капсул, таблеток і тонізуючих засобів.

Термін "Лікарські форми, придатні для місцевого застосування" означає лікарські форми, придатні для введення в організм пацієнта місцевим способом. Такі лікарські форми можуть являти собою лініменти, мазі, пудри, спреї та інгліяційні препарати, гелі (на водній або спиртовій основі), креми, в цілому відомі в практиці, або ж можуть бути введені в матричну основу для застосування в пластирах, звідки сполука може контрольованим чином вивільнятися через трансдермальний бар'єр. При виготовленні мазей активні ігредієнти можна використовувати в сполученні з парафіною або змішуваною з водою основою мазі. В альтернативних варіантах активні ігредієнти можна вводити в крем із використанням основи крему типу "масло в воді". До лікарських форм, придатних для місцевого введення в очі, належать очні краплі, де активний ігредієнт розчинений або суспендований у відповідному носії, зокрема, в розчиннику активного ігредієнта на водній основі. До лікарських форм, придатних для місцевого застосування пероральним шляхом, належать пастилки, що містять активний ігредієнт в ароматизованій основі, як правило, в сахарозі та акацієвій камеді або траганті; пастилки, що містять активний ігредієнт в інертній основі, наприклад, в желатині та гліцерині або сахарозі та акацієвій камеді; і рідини для полоскання рота, що містять активний ігредієнт у відповідному рідкому носії.

Термін "тверда дозована форма" означає, що дозована форма сполуки, наданої цим винаходом, є твердою і являє собою, наприклад, капсули, таблетки, пілюлі, порошки, драже або гранули. В таких твердих дозованих формах сполука, надана цим винаходом, змішана щонайменше з одним інертним звичайним наповнювачем (або носієм), наприклад, із цитратом натрію або дикальційфосфатом, або з (а) заповнювачами або наповнювачами, наприклад, із крохмалем, лактозою, сахарозою, глюкозою, манітом та кремнієвою кислотою; (b) в'язкими, наприклад, карбоксиметилцелюлозою, альгінатами, желатином, полівінілпіролідом, сахарозою та акацієвою камеддю; (c) зволожувальними агентами, наприклад, з гліцерином; (d) дезінтеграторами, наприклад, з агар-агаром, карбонатом кальцію, картопляним або тапіоковим крохмалем, альгіноювою кислотою, певними комплексними силікатами та карбонатом натрію; (e) уповільнювачами розчинення, наприклад, з парафіном; (f) прискорювачами поглинання, наприклад, з четвертинними амонієвими сполуками; (g) змочувачами, наприклад, з цетиловим спиртом і моностеаратом гліцерину; (h) адсорбентами, наприклад, з каоліном і бентонітом; (i) змашувальними агентами, наприклад, тальком, стеаратом кальцію, стеаратом магнію, твердими поліетиленгліколями, лаурилсульфатом натрію; (j) м'якувальними агентами; (k) буферними сполуками, а також агентами, які забезпечують вивільнення сполуки (сполук), наданих цим винаходом, у певній частині шлунково-кишкового тракту з відповідним затриманням.

Конкретні рівні дозування активного ігредієнта (ігредієнтів) у композиціях, наданих цим винаходом, можна варіювати з розрахунком на забезпечення кількості активного ігредієнта (ігредієнтів), ефективної з точки зору досягнення бажаного терапевтичного ефекту для конкретної композиції та способу її введення в організм пацієнта. Тому вибір конкретного рівня дозування для конкретного пацієнта залежить від численних факторів, в тому числі від бажаного терапевтичного ефекту, шляху введення, бажаної тривалості лікування, етіології та тяжкості захворювання, стану пацієнта, маси його тіла, статі, умов харчування та віку, типу та ефективності кожного з активних ігредієнтів, швидкості поглинання, метаболізму та/або виділення тощо.

Сумарна добова кількість сполук, наданих цим винаходом, яка вводиться пацієнту у формі однієї або кількох доз, може становити, наприклад, від приблизно 0,001мг/кг до приблизно 100мг/кг маси тіла на добу, перевага віддається дозам від 0,01мг/кг на день до 10мг/кг на день. Наприклад, для дорослих людей доза може становити в загальному випадку від приблизно 0,01мг/кг до приблизно 100мг/кг, у варіанті, якому віддається перевага, від приблизно 0,01мг/кг до приблизно 10мг/кг маси тіла на добу при застосуванні шляхом інгаляції; від приблизно 0,01мг/кг до приблизно 100мг/кг, у варіанті, якому віддається перевага, від приблизно 0,1мг/кг до 70мг/кг, головним чином, від приблизно 0,5мг/кг до 10мг/кг маси тіла на добу при пероральному застосуванні; і від приблизно 0,01мг/кг до приблизно 50мг/кг, у варіанті, якому віддається перевага, від 0,01мг/кг до 10мг/кг маси тіла на добу при внутрішньовенному введенні. Вміст активного ігредієнта в композиції можна варіювати, проте він має міститися в композиції в кількості, яка забезпечує відповідне дозування. Одиниці дозування композиції можуть містити такі частки активного ігредієнта, які можна застосувати для забезпечення добової дози. Очевидно, що можна приблизно одночасно вводити в організм кілька одиниць дозованих форм. Дози лікарського засобу можна вводити з періодичністю, яка є необхідною для досягнення бажаного терапевтичного ефекту. Деякі пацієнти можуть швидко реагувати на більші або менші дози, і адекватними для них можуть бути значно зменшені підтримуючі дози. Для інших пацієнтів може виявитися необхідним тривале лікування з використанням від 1 дози до 4 доз на день, згідно з фізіологічними потребами кожного конкретного пацієнта. Зрозуміло, що для інших пацієнтів може виявитися необхідним вживання не більше ніж однієї або двох доз на день.

Фармацевтичні композиції можна виготовляти в одиничних дозованих формах будь-яким із способів, добре відомих у фармацевтичній практиці. Такі способи включають стадію поєднання активного ігредієнта з носієм, який містить один або кілька допоміжних ігредієнтів. Як правило, фармацевтичні композиції виготовляють шляхом приготування однорідної суміші активного ігредієнта з рідкими носіями або з тонко подрібненими твердими носіями, або з носіями обох типів, з подальшим формуванням продукту в разі необхідності.

Лікарські форми можуть випускатися в однодозових або багатодозових контейнерах, наприклад, у запаяних ампулах та флаконах з еластомерними пробками, і можуть зберігатися в сублімованому (ліофілізованому) стані, що вимагає додання безпосередньо перед застосуванням тільки стерильного рідкого носія, наприклад, води для ін'єкцій. Ін'єкційні розчини та суспензії для негайного застосування можна готувати зі стерильних порошоків, гранул та таблеток вищезазначених типів.

Сполуки згідно з цим винаходом мають значний фармакологічний ефект, що впливає з результатів випробувань, описаних в літературі та нижче в цьому документі; вважається, що ці результати випробувань

корелюють із фармакологічною дією на людей та інших ссавців.

Методика випробування на ензими *in vitro*

Інгібування серинпротеази NS3 HCV

Домен протеази NS3 HCV виділяли і очищали, як описано раніше [Vertex, PCT WO 98/17679, відомості з якого включено до цього опису за посиланням]. Хромогенний пептидний субстрат, EDWAbuC-*p*-нітроанілід, і фрагмент кофактора NS4A (-KKGSWIVGRIVLSGK-) для протеази NS3 були синтезовані на замовлення фірмою American Peptide Com (Ca). Сполуки згідно з цим винаходом випробовували на їх здатність інгібувати діяльність протеази NS3 HCV із застосуванням спектрофотометричного аналізу з EDWAbuC-*p*-нітроанілідом як субстратом. Випробування виконували в 96-лунковому мікротитрувальному планшеті з застосуванням зчитувального пристрою SpectraMax 250 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) з кінетичною здатністю. Розщеплення субстратного EDWAbuC-*p*-нітроаніліду (500мкМ) очищеною протеазою NS3 HCV (0,5мкМ) виконували при 30°C в буферному розчині, який містив 30мкМ фрагмента NS4A, 46мМ HEPES, pH 8,0, 92мМ хлориду натрію, 18% гліцерину, 5мМ DTT і 7,5% диметилсульфоксиду за відсутності або за присутності випробовуваної сполуки. Хід реакції контролювали за виділенням *p*-нітроаніліну (детектування на довжині хвилі 405нм).

Визначення кінетичних параметрів, в тому числі V_{max} , K_m і V_{max}/K_m , виконували у вищезазначених умовах. Значення K_i розраховували із графіків залежності швидкості від концентрації інгібітора при фіксованих концентраціях ензиму та субстрату, з застосуванням наближення експериментальних даних методом найменших квадратів до рівняння Моррісона для конкурентного інгібування міцного зв'язування [J.F. Morrison, Biochim. Biophys. Acta, 185, 269-286, 1969]. Для цього використовували програму Prism (фірма GraphPad Software, Inc.).

Інгібітори веринпротеази HCV, розкриті в цьому описі, можна застосовувати в комбінації з іншими молекулами, які безпосередньо виявляють антивірусну активність проти HCV або опосередковано сприяють такій активності, або для профілактики пацієнтів, у яких має місце ризик інфекції HCV, або при лікуванні вже інфікованих пацієнтів. Термін "антивірусна активність проти HCV" означає здатність молекули при присутності її в організмі повністю інгібувати або послаблювати нагромадження віріонів HCV порівняно з нагромадженням віріонів HCV у відсутності такої молекули та/або здатність молекули послаблювати або полегшувати стан або симптоми, пов'язані з інфекцією або патогенезом HCV у пацієнтів. До молекул, які виявляють антивірусну активність проти HCV, належать ті, що переривають одну або кілька стадій стадій інфекції або реплікації HCV, а також ті, що збуджують імунomodulatory та антипроліфераторну активність клітин організму-хазяїна. Молекули, які виявляють антивірусну активність проти HCV, можуть інгібувати специфічні для HCV реплікативні події, наприклад (але не тільки), синтез нуклеїнової кислоти або протеїну, що регулюється HCV. До стадій реплікації HCV, на які можуть впливати молекули, що виявляють антивірусну активність проти HCV, належать входження в клітину (наприклад, прикріплення, проникнення); розкриття та вивільнення геному HCV; реплікація геному HCV (наприклад, реплікація будь-якого пасма геному вірусної РНК; транскрипція вірусної месенджер-РНК); трансляція протеїнів HCV; післятрансляційне модифікування протеїнів HCV (наприклад, протеолітичне розщеплення, глікозилювання); внутрішньоклітинний транспорт вірусних протеїнів; збирання компонентів віріону; і вивільнення частинки вірусу (наприклад, бутонізація). До класів молекул, що виявляють антивірусну активність, належать розчинні рецепторні речовини та антирецепторні антитіла; блокатори іонних каналів, стабілізатори капсид та інгібітори конденсації протеїнів; інгібітори вірусних полімераз, зворотної транскриптази, гелікази, примази або інтегрази; антисмислові олігонуклеотиди та рибозими; імунomodulatory та імуностимуляторні агенти, в тому числі цитокіни, наприклад, інтерферони, а також агоністи пептидів, стероїди і класичні лікарські засоби, наприклад, левамізол; інгібітори регуляторних протеїнів; інгібітори протеаз; інгібітори збирання протеїнів; та антивірусні антитіла та цитотоксичні лімфоцити, але не тільки такі молекули. Термін "кількість, ефективна проти HCV" (або "терапевтично ефективна кількість") означає кількість сполуки або комбінації сполук, наданих цим винаходом, яка ефективно послаблює або полегшує стан або симптоми, пов'язані з інфекцією HCV або пов'язаним із нею патогенезом у пацієнтів, або знижує кількість вірусів *in vitro* або *in vivo*. Стосовно до випробувань *in vitro* така кількість стосується описаної нижче системи Replicon Assay, де вона є ефективною щодо зменшення нагромадження РНК реплікону HCV та/або нагромадження протеїнів, кодovаних генами, що містяться в згаданій РНК.

До сполук, що виявляють антивірусну активність проти HCV, які розглядаються як придатні для застосування в композиціях та способах для комплексної терапії, описаних в цьому документі, належать імунomodulatory молекули, в тому числі імунomodulatory цитокіни, та інші сполуки, відомі як такі, що виявляють антивірусну активність проти HCV, наприклад, різноманітні противірусні нуклеозиди та нуклеотиди, але не тільки згадані сполуки.

Імунomodulatory молекули, які розглядаються як придатні для застосування в комбінації з інгібіторами серинпротеази HCV, описаними в цьому документі, належать α -інтерферон 2B (Intron A, Schering-Plough); "Рабатрон" (Schering-Plough, α -інтерферон 2B+рибавірин); перільований α -інтерферон [K.R. Reddy et al., Efficacy and safety of pegylated (40-kd) interferon alpha-2a compared with interferon alpha-2a in noncirrhotic patient with chronic hepatitis C. Hepatology 33, 433-438, 2001]; консенсус-інтерферон [J.H. Kao, P.J. Chen, M.Y. Lai and D.S. Chen. Efficacy of consensus interferon in the treatment of chronic hepatitis C. J. Gastroenterol. Hepatol. 15, 1418-1423, 2000]; α -інтерферон 2A (Referon A, Roche); лімфобластоїд або "природний" інтерферон; τ -інтерферон [P. Clayette et al., INF-tau, a new interferon type I with antiretroviral activity. Pathol. Biol (Paris) 47, 553-559, 1999]; інтерлейкін-2 [G.L. Davis, D.R. Nelson and G.R. Reyes. Future options for the management of hepatitis C Seminars in Liver Disease 19, 103-112, 1999]; інтерлейкін-6 [G.L. Davis, D.R. Nelson and G.R. Reyes. Future options for the management of hepatitis C. Seminars in Liver Disease 19, 103-112, 1999]; інтерлейкін-12 [G.L. Davis, D.R. Nelson and G.R. Reyes. Future options for the management of hepatitis C. Seminars in Liver Disease 19, 103-112, 1999]; рибавірин; і сполуки, які сприяють розвитку реакції хелпера типу 1 Т-клітин [G.L. Davis, D.R. Nelson and G.R. Reyes. Future options for the management of hepatitis C. Seminars in Liver Disease 19, 103-112, 1999], але не тільки згадані сполуки. Інтерферони здатні полегшувати вірусні інфекції внаслідок прямого антивірусного ефекту та/або модифікації імунної реакції на інфекцію.

Антивірусний ефект інтерферонів часто опосередковується інгібуванням проникнення або розкриття вірусу, синтезу вірусної РНК, трансляції вірусних протеїнів та/або збирання та вивільнення вірусів.

До сполук, які стимулюють синтез інтерферонів у клітинах [Е.В. Tazulakhova, О.В. Parshina, Т.С. Gusev and F.I. Ershov. Russian Experience in Screening, Analysis, and Clinical Application of Novel Interferon Inducers. J. Interferon Cytokine Res. 21, 65-73], належать дволанцюжкова РНК, окремо або в комбінації з тобраміцином, та іміхімод (Imiquimod, 3M Pharmaceuticals) [D.N. Sauder, Immunomodulatory and pharmacologic properties of imiquimod. J. Am. Acad. Dermatol. 43, S6-11, 2000], але не тільки згадані сполуки.

До інших сполук, які виявляють або можуть виявляти антивірусну активність проти HCV в силу неімуномодуляторних механізмів, належать рибавірин (ICN Pharmaceuticals), інгібітори 5'-монофосфат-дегідрогенази (VX-497, розроблюється Vertex Pharmaceuticals); амантадин та римантадин [A.M. Younossi and R.P. Perillo. The roles of amantadine, rimantadine, ursodeoxycholic acid, NSAIDs, alone or in combination with alpha interferons, in the treatment of chronic hepatitis C. Seminars in Liver Disease 19, 95-102, 1999]; LY217896 [патент США 4,835,168; J.M. Colacino et al. Evaluation of the anti-influenza virus activities of 1,3,4-thiadiazol-2-ylcyanamide (LY217896) and its sodium salt. Antimicrobial Agents & Chemotherapy 34, 2156-2163, 1990]; і метиловий ефір 9-гідроксиіміно-6-метокси-1,4а-диметил-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагідрофенантрен-1-карбонової кислоти; гідрохлорид метилового ефіру 6-метокси-1,4а-диметил-9-(4-метилпіперазин-1-іліміно)-1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагідрофенантрен-1-карбонової кислоти; 1-(2-хлорфеніл)-3-(2,2-дифенілетил)-сечовина [патент США 6,127,422], але не тільки згадані сполуки.

Лікарські форми, дози та шляхи введення вищезгаданих молекул або описані в джерелах, цитованих нижче, або добре відомі в практиці, як описано, наприклад, в роботі Хейдена [F.G. Hayden, in: Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th Ed., Hardman et al., Eds., McGraw-Hill, New York, 1996, розділ 50, стор.1191-1223] та в джерелах, цитованих у цій праці. Альтернативно, якщо певну сполуку ідентифіковану як таку, що виявляє антивірусну активність проти HCV, то її фармацевтично ефективну кількість можна визначити, застосовуючи способи, добре відомі фахівцям. [Див., наприклад, роботу Бенета та інших (Benet et al., in: Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th Ed., Hardman et al., Eds., McGraw-Hill, New York, 1996, розділ 1, стор.3-27] та джерела, цитовані в цій праці. Таким чином, придатні лікарські форми, діапазони доз та режими дозування для такої сполуки можна легко визначити стандартними способами.

Комбінації лікарських засобів, наданих цим винаходом, можна ввести в клітину або клітини, або в організм пацієнта, або у вигляді застосовуваних одночасно або послідовно окремих фармацевтично прийнятних композицій, які містять кілька терапевтичних агентів, або ж у вигляді набору фармацевтичних композицій, де деякі з них містять один агент, а інші кілька агентів. Проте у будь-якому випадку застосовувані комбінації лікарських засобів містять ефективну проти HCV кількість компонентів.

На цей час випускається значна кількість інших імуномодуляторів та імуностимуляторів, до яких належать (у дужках вказано фірму-розробник): AA-2G; адамантиламід-дипептид; аденозиндіаміназа (Enzon); ад'ювант (Alliance); ад'юванти (Ribi); ад'юванти (Vaxcel); Adjuvax; агеласфін-11; СНІД-терапія (Chiron); альгаль-глюкан (SRI); альгамулін (Anutech); Anginlys; антицелюлярні агенти (Yeda); Anticort; імуноген антигастрин-17 (Ap); система постачання антигенів (Vac); антигенна композиція (IDBC); імуноген анти-GnRH (Aphon); Antiherpin; Arbidol; азарол; Bay-q-8939; Bay-r-1005; BCH-1393; Betafectin; Biostim; BL-001; BL-009; Broncostat; Cantastim; CDRI-84-246; цетодизим; інгібітори хемокінів (ICOS); пептиди CMV (City of Hope); CN-5888; агент вивільнення цитокіну (St); DHEAS (Paradigm); DISC TA-HSV; J07B; J01A; J01Z; дитіокарб-натрій; ECA-10-142; ELS-1; ендотоксин (Novartis); FCE-20696; FCE-24089; FCE-24578; ліганд FLT-3 (Immunex); FR-900483; FR-900494; FR-901235; FTS-Zn; G-протеїни (Cadus); глудапцин; глутаурин; глікофосфопептикаль; GM-2; GM-53; GMDP; вакцина фактора росту (EntreM); H-BIG (NABI); H-CIG (NABI); HAV-439; вакцина Helicobacter pylori; герпес-специфічний імунний фактор; ВІЛ-терапія (United Biomed); HyperGAM+CF; ImmuMax; Immun BCG; імунна терапія (Connective); імуномодулятор (Evans); імуномодулятор (Novacell); imper-1; imper-2; Indomune; інозин-пранобекс; інтерферон (α -2) (Dong-A); інтерферон (γ) (Genentech); інтерферон (α) (Novartis); інтерлейкін-12 (Genetics Ins); інтерлейкін-15 (Immunex); інтерлейкін-16 (Research Cor); ISCAR-1; J005X; L-644257; лікомарасмінова кислота; LipoTher; LK-409; LK-410; LP-2307; LT (R1926); LW-50020; MAF (Shionogi); похідні MDP (Merck); мет-енкефалін (TNI); метилфурилбутиролактони; MIMP; міримостим; змішана бактеріальна вакцина (Tem.); моніліастат; MPLA (Ribi); MS-705; мурабутид; мурабутид (Vacsyn); похідні мурамил-пептиду; похідні мурамил-пептиду мієлопід; -563; NACOS-6; NH-765; NISV (Proteus); NPT-16416; NT-002; PA-485; PEFA-814; пептиди (Scios); пептидоглікан (Pliva); Perthon (Advanced Plant); похідні PGN (Pliva); Pharmaprojects №1099; №1426; №1549; №1585; №1607; №1710; №1779; №2002; №2060; №2795; №3088; №3111; №3345; №3467; №3668; №3998; №3999; №4089; №4188; №4451; №4500; №4689; №4833; №494; №5217; №530; підотимод; пімеллаутид; пінафід; PMD-589; подофілотоксин (Conpharm); POL-509; полі-ICLC; полі-ICLC (Yamasa Shoyu); PolyA-PolyU; Polyscachride A; протеїн A (Berlox Bioscience); PS34WO; Pseudomonas Mabs (Teijin); Psomaglobin; PTL-78419; Pyrexol; піріферон; Retrogen; Retroprep; RG-003; Rhinostat; рифамаксил; RM-06; Rollin; ромуртид; RU-40555; RU-41821; антитіла Rubella (ResCo); S-27609; SB-73; SDZ-280-636; SDZ-MRL-953; SK&F-107647; SL04; SL05; SM-4333; Solutein; SRI-62-834; SRL-172; ST-570; ST-789; стафал-лізат; Stimulon; супресин; T-150R1; T-LCEF; табілаутид; темуртид; Theradigm-HBV; Theradigm-HPV; Theradigm-HSV; THF (Pharm & Upjohn); THF (Yeda); тималфазин; фракції тимусного гормону; тимокартин; тимолімфотропін; тимопентин; аналоги тимопентину; тимопентин (Peptech); фракція 5 тимозину (Alpha); тимостимулін; тимотринан; TMD-232; TO-115; фактор переносу (Viragen); туфцин (Selavo); убенімекс; Ulsastat; ANGG-; CD-4+; Collag+; COLSF+; COM+; DA-A+; GAST-; GF-TH+; GP-120-; IF+; IF-A+; IF-A-2+; IF-B+; IF-G+; IF-G-1B+; IL-2+; IL-12+; IL-15+; IM+; LHRH-; LIPCOR+LLYM-B+; LYM-NK+; LYM-T+; OPI+; PEP+; PHG-MA+; RNA-SYN-; SY-CW-; TH-A-1+; TH-5+; TNF+; UN.

До типових нуклеозидних та нуклеотидних сполук, корисних у цьому винаході, належать, але ними не обмежуються:

- (+)-цис-5-фтор-1-[2-(гідроксиметил)-[1,3-оксатіолан-5-іл]цитозин;
- (-)-2'-деокси-3'-тіоцитидин-5'-трифосфат (3TC);

(-)-цис-5-фтор-1-[2-(гідроксиметил)-[1,3-оксатіолан-5-іл]цитозин (FTC);
 (-)-2',3'-дидеокси-3'-тіацитидин [(-)-SddC];
 1-(2'-деокси-2'-фтор-бета-D-арабінофуранозил)-5-йодцитозин (FIAC);
 1-(2'-деокси-2'-фтор-бета-D-арабінофуранозил)-5-йодцитозину трифосфат (FIACTP);
 1-(2'-деокси-2'-фтор-бета-D-арабінофуранозил)-5-метилурацил (FMAU);
 1-бета-D-рибофуранозил-1,2,4-триазол-3-карбоксамід;
 2',3'-дидеокси-3'-фтор-5-метил-дексоцитидин (FddMeCyt);
 2',3'-дидеокси-3'-хлор-5-метил-дексоцитидин (ClddMeCyt);
 2',3'-дидеокси-3'-аміно-5-метил-дексоцитидин (AddMeCyt);
 2',3'-дидеокси-3'-фтор-5-метил-цитидин (FddMeCyt);
 2',3'-дидеокси-3'-хлор-5-метил-цитидин (ClddMeCyt);
 2',3'-дидеокси-3'-аміно-5-метил-цитидин (AddMeCyt);
 2',3'-дидеокси-3'-фтор-тимідин (FddThd);
 2',3'-дидеокси-β-L-5-фторцитидин (β-L-FddC);
 2',3'-дидеокси-β-L-5-тіацитидин;
 2',3'-дидеокси-β-L-5-цитидин (β-L-ddC);
 9-(1,3-дигідрокси-2-пропоксиметил)гуанін;
 2'-деокси-3'-тіа-5-фторцитозин;
 3'-аміно-5-метил-дексоцитидин (AddMeCyt);
 2-аміно-1,9-[(2-гідроксиметил)-1-(гідроксиметил)етокси]метил]-6Н-пурин-6-он (ганцикловір);
 2-[2-(2-аміно-9Н-пурин-9-іл)етил]-1,3-пропандіол-ацетат (фамцикловір);
 2-аміно-1,9-дигідро-9-[(2-гідроксіетокси)метил]-6Н-пурин-6-он (ацикловір);
 9-(4-гідрокси-3-гідроксиметил-бут-1-іл)гуанін (пенцикловір);
 9-(4-гідрокси-3-гідроксиметил-бут-1-іл)-6-деоксигуанін-діацетат(фамцикловір);
 3'-азвдо-3'-деокситимідин (AZT);
 3'-хлор-5-метил-дексоцитидин (ClddMeCyt);
 9-(2-фосфоніл-метоксіетил)-2',6'-діамінопурин-2',3'-дидеоксирибозид;
 9-(2-фосфоніл-метоксіетил)аденін (PMEA);
 ацикловір-трифосфат (ACVTP);
 D-карбоцикліл-2'-деоксигуанозин (CdG);
 дидеокси-цитидин;
 дидеокси-цитозин (ddC);
 дидеокси-гуанін (ddG);
 дидеокси-інозин (ddl);
 E-5-(2-бромвініл)-2'-деоксіуридин трифосфат;
 фтор-арабінофуранозил-йодурацил;
 1-(2'-деокси-2'-фтор-1-β-D-арабінофуранозил)-5-йодурацил (FIAU);
 ставудин;
 9-β-D-арабінофуранозил-9Н-пурин-6-амін, моногідрат (Ara-A);
 9-β-D-арабінофуранозил-9Н-пурин-6-амін-5'-монофосфат, моногідрат (Ara-AMP);
 2-деокси-3'-тіа-5-фторцитвдин;
 2',3'-двдеокси-гуанін; і
 2',3'-дидеокси-гуанозин.

Методи синтезу для одержання нуклеозидів та нуклеотидів, корисних для цілей цього винаходу, добре відомі в техніці і описані в таких джерелах: [Acta Biochim. Pol. 43, 25-36 (1996); Swed. Nucleosides Nucleotides 15, 361-378 (1996); Synthesis 12, 1465-1479 (1995); Carbohydr. Chem. 27, 242-276 (1995); Chem. Nucleosides Nucleotides 3, 421-535 (1994); Ann. Reports in Med. Chem., Academic Press; та Exp. Opin. Invest. Drugs 4, 95-115 (1995)].

Хімічні реакції, описані в вищенаведених джерелах, як правило, охарактеризовані в термінах їх найширшого застосування для одержання сполук, наданих цим винаходом. В деяких випадках ці реакції можуть бути непридатними в описаному вигляді для кожної сполуки, включеної в обсяг сполук, розкритих у цьому документі. Обізнаним фахівцям неважко визначити такі сполуки. У всіх таких випадках реакції можна або легко виконати з застосуванням звичайних модифікацій, відомих обізнаним фахівцям, наприклад, шляхом відповідного захисту груп, які небажано вводити в реакцію, застосування альтернативних відомих реагентів, звичайним корегуванням умов проведення реакції тощо, або для одержання відповідних сполук згідно з цим винаходом можуть бути застосовані інші реакції, описані в цьому документі або відомі з інших джерел. Вихідні матеріали для всіх препаративних методик відомі або ж можуть бути без утруднень одержані з відомих вихідних матеріалів.

В той час як аналоги нуклеозидів, як правило, застосовують як антивірусні агенти у своїх звичайних формах, нуклеотиди (фосфати нуклеозидів) іноді необхідно перетворити в нуклеозиди з метою полегшення їх транспорту через клітинні мембрани. Прикладом хімічно модифікованого нуклеотиду, здатного проникати в клітини, є S-1-3-гідрокси-2-фосфонілметоксипропіл-цитозин (HPMPC, Gilead Science). Нуклеозиди та нуклеотиди згідно з цим винаходом, які є кислотами, можуть утворювати солі. Прикладами таких солей є солі лужних або лужноземельних металів, наприклад, натрію, калію, кальцію або магнію, або органічних основ, або основні четвертинні амонієві солі.

Імуномодулятори та імуностимулятори, корисні в способах комплексної терапії згідно з цим винаходом, можна вживати в менших кількостях порівняно зі звичайними в практиці кількостями. Наприклад, α-інтерферон для лікування інфекції HCV звичайно призначають людям в кількості від приблизно 1×10⁶ одиниць тричі на тиждень до приблизно 10×10⁶ одиниць тричі на тиждень [Simon et al, Hepatology 25:445-448, 1997]. В способах та композиціях згідно з цим винаходом ця доза може бути в межах від приблизно 0,1×10⁶ одиниць тричі на тиждень до приблизно 7,5×10⁶ одиниць тричі на тиждень, у варіанті, якому віддається перевага, від приблизно 0,5×10⁶ одиниць тричі на тиждень до приблизно 5×10⁶ одиниць тричі на

тиждень, у варіанті, якому віддається більша перевага, від приблизно 1×10^6 одиниць тричі на тиждень до приблизно 3×10^6 одиниць тричі на тиждень. Внаслідок підвищеної ефективності антивірусного впливу імуномодуляторів та імуностимуляторів на вірус гепатиту С в присутності інгібіторів серинпротеази HCV, наданих цим винаходом, в способах і композиціях, розкритих в цьому описі, можна застосовувати зменшені кількості цих імуномодуляторів та імуностимуляторів. Аналогічно, внаслідок підвищеної ефективності антивірусного впливу інгібіторів серинпротеази HCV згідно з цим винаходом на вірус гепатиту С в присутності імуномодуляторів та імуностимуляторів в способах і композиціях, розкритих в цьому описі, можна застосовувати зменшені кількості цих інгібіторів серинпротеази HCV. Такі зменшені кількості можна визначити шляхом звичайного моніторингу титру вірусу гепатиту С у інфікованих пацієнтів, які проходять лікування. Такий моніторинг можна виконувати, наприклад, шляхом контролю РНК HCV в сироватці крові пацієнта способом щілин-плям, способом точок-плям або способом RT-PCR, або ж вимірюванням поверхневих антигенів HCV або інших антигенів. Аналогічним чином можна спостерігати пацієнтів в процесі комплексної терапії з застосуванням інгібіторів серинпротеази HCV згідно з цим винаходом та інших сполук, що виявляють антивірусну активність проти HCV, наприклад, нуклеозидних та/або нуклеотидних антивірусних агентів, для визначення мінімальних ефективних доз кожного агента при їх комбінованому застосуванні.

У способах комплексної терапії, розкритих в цьому описі, нуклеозидні або нуклеотидні антивірусні сполуки або їх суміші можна призначати людям в кількості від приблизно 0,1 мг/день до приблизно 500 мг/день; перевага віддається дозам від приблизно 10 мг/день до приблизно 300 мг/день; більша перевага віддається дозам від приблизно 25 мг/день до приблизно 200 мг/день; ще більша перевага - дозам від приблизно 50 мг/день до приблизно 150 мг/день; найбільша перевага - дозам від приблизно 1 мг/день до приблизно 50 мг/день.

Добову дозу можна вводити в організм пацієнта у формі одиничної дози або у формі кількох пропорційно зменшених субдоз. В останньому випадку одиниці дозування композиції можуть містити такі кількості активних сполук, щоб сумарна вжита кількість протягом дня дорівнювала добовій дозі. Кількаразове дозування протягом дня можна також використати для збільшення сумарної добової дози, якщо цього прагне особа, яка призначає ліки.

Режими лікування пацієнта, який страждає на інфекцію HCV, сполуками та/або композиціями згідно з цим винаходом добираються з урахуванням різноманітних факторів, в тому числі віку, маси тіла, статі, харчування та медичного стану пацієнта, тяжкості захворювання, шляху введення лікарського засобу в організм, фармакологічних міркувань, наприклад, активності, ефективності, фармакокінетичних та токсикологічних профілів конкретних застосовуваних сполук і факту використання чи невикористання терапевтичних систем доставки лікарського засобу. Комбінації лікарських засобів, розкриті в цьому описі, як правило, слід застосовувати протягом періоду тривалістю від кількох тижнів до кількох місяців або років, до досягнення прийнятних значень титру вірусу, які вказують, що інфекція знаходиться під контролем або викорінена. Пацієнтів, яких лікують комбінаціями лікарських засобів, розкритих в цьому описі, можна постійно спостерігати шляхом вимірювання РНК вірусу гепатиту в сироватці крові способом щілин-плям, способом точок-плям або способом RT-PCR, або ж вимірюванням антигенів вірусу гепатиту С, наприклад, поверхневих антигенів, у сироватці крові з метою визначення ефективності терапії. Постійний аналіз даних, одержаних вказаними методами, дозволяє модифікувати режими лікування на протязі курсу терапії з метою вибору оптимальних кількостей кожного компонента у застосовуваній комбінації та для визначення тривалості терапії. Таким чином, режим застосування і дозування лікарських засобів можна раціонально модифікувати на протязі курсу терапії і в такий спосіб забезпечувати введення в організм пацієнта мінімальних кількостей кожної з антивірусних сполук, застосовуваних у комбінації, які спільно забезпечують задовільну ефективність проти вірусу гепатиту С, і застосовувати такі антивірусні сполуки в комбінації лише протягом періоду, необхідного для успішного лікування захворювання.

Цей винахід охоплює застосування інгібіторів серинпротеази HCV, розкритих в цьому описі, в різноманітних комбінаціях із вищезазначеними та аналогічними типами сполук, що виявляють активність проти HCV, для лікування або профілактики інфекції HCV у пацієнтів. Наприклад, один або кілька інгібіторів серинпротеази HCV можна застосовувати в комбінації з одним або кількома інтерферонами або похідними інтерферонів, активними проти HCV; однією або кількома сполуками неінтерферонного типу, активними проти HCV; або з одним або кількома інтерферонами або похідними інтерферонів, активними проти HCV, і однією або кількома сполуками неінтерферонного типу, активними проти HCV. При застосуванні в комбінації для лікування або профілактики інфекції HCV у пацієнта-людини будь-який з розкритих в цьому описі інгібіторів серинпротеази HCV та будь-яка з вищезазначених сполук, активних проти HCV, може бути присутнім у фармацевтично ефективній або ефективній проти HCV кількості. Внаслідок наявності адитивних або синергічних ефектів кожний з вищезазначених засобів може бути присутнім у вищезазначених комбінаціях також у субклінічній фармацевтично ефективній або ефективній проти HCV кількості, тобто в кількості, яка при застосуванні даного засобу окремо забезпечує знижену фармацевтичну ефективність із точки зору повного інгібування або послаблення нагромадження віріонів HCV та/або послаблення або покращення станів або симптомів, пов'язаних з інфекцією HCV, або патогенезу у пацієнтів у порівнянні з такими ж інгібіторами серинпротеази HCV та сполуками, активними проти HCV, застосовуваними в фармацевтично ефективних кількостях. Крім того, цей винахід охоплює застосування комбінацій інгібіторів серинпротеази HCV та сполук, активних проти HCV, як описано вище, для лікування або профілактики інфекції HCV, де один або кілька з таких інгібіторів або сполук присутні у фармацевтично ефективній кількості, а один або кілька інших присутні в субклінічній фармацевтично ефективній або ефективній проти HCV кількості (кількостях) за рахунок їх адитивних або синергічних ефектів. У значенні, вживаному в цьому описі, термін "адитивний ефект" означає спільний ефект двох або більше фармацевтично активних агентів, який дорівнює сумі ефектів кожного з цих агентів, вживаних окремо. "Синергічним ефектом" зветься спільний ефект двох або більше фармацевтично активних агентів, який перевищує суму ефектів кожного з цих агентів, вживаних окремо.

Приклад 42

Сучасна стандартна терапія інфекції вірусу гепатиту С (HCV) полягає в лікуванні імуномодулятором α -інтерфероном [Chronic Hepatitis C: Current Disease Management, U.S. Department of Health and Human Services, National Institute of Health, 1999]. Ця терапія є неефективною для більшості хворих на HCV, у яких або не виявлено реакції, або виникають рецидиви навіть після тривалого курсу інтерферонової терапії. Крім того, з інтерференовою терапією пов'язані тяжкі побічні ефекти.

З урахуванням нагальної потреби в нових, більш ефективних антивірусних засобах для лікування пацієнтів, інфікованих HCV, автори цього винаходу розробили серію сполук, які інгібують серинпротеазу HCV (комплекс протеїнів HCV NS3 та NS4A). Ці сполуки можна застосовувати окремо, в комбінації одна з одною та в комбінації з іншими класами сполук для лікування або профілактики інфекції HCV. В цьому прикладі описано застосування трьох типових інгібіторів серинпротеази HCV, а саме: Сполуки CU, Сполуки EP та Сполуки EC, окремо та в комбінації з індивідуальними представниками групи інтерферонів (α -2B-інтерферон (Schering-Plough), α -2A-інтерферон (PBL Biomedical Labs., New Brunswick, NJ), β -інтерферон (Research Diagnostics Inc., Flanders, NJ), овечий τ -інтерферон (Research Diagnostics Inc., Flanders, NJ)) у випробуваннях на реплікон субгеномної РНК HCV (репліконова проба) для з'ясування спільної дії двох згаданих сполук на зменшення нагромадження РНК HCV. У репліконовій пробі вимірюють кількість субгеномної РНК HCV (репліконові РНК), яка залишається в репліконових клітинах [Lohmann et al., Science 285: 110-113, 1999] після двох діб обробки лікарським засобом у порівнянні з кількістю репліконові РНК в необроблених клітинах. При цьому випробуванні ефективність сполук як агентів, активних проти вірусу HCV, прямо пропорційна рівню інгібування нагромадження репліконові РНК.

Два лікарських засоби випробовували в комбінаціях із використанням системи репліконові проби *in vitro* з метою визначення наявності або відсутності їх адитивного або синергічного ефекту проти HCV. Репліконова проба використовується як сурогатна модель для інфекції HCV *in vitro* з метою оцінки спільного ефекту імуномодулятора (наприклад, α -2B-інтерферону (Intron A, Schering-Plough) та інгібітора серинпротеази HCV, наприклад, Сполуки CU. Як показано нижче, одержані результати свідчать, що має місце явний синергічний ефект проти HCV цих двох типів лікарських засобів. Цей ефект кількісно оцінюється формальним математичним визначенням синергізму при аналізі їх здатності знижувати рівень нагромадження РНК HCV в репліконовій пробі.

Репліконова проба

Репліконова проба, де застосовується лінія клітин, що містить здатну до самостійної реплікації субгеномну РНК HCV (реплікон), описана в роботі Ломана та інших [Lohmann et al., Science 285: 110-113, 1999]. В цьому джерелі вказано, що послідовність реплікону, застосовуваного в описаних експериментах, має номер за каталогом Генного банку AJ242654. У згаданій роботі описано методи транскрипції *in vitro* РНК із репліконові с-ДНК, трансфекції репліконові РНК в клітини Huh7 способом електропорації і селекції клітин, що містять репліконову РНК, із використанням антибіотика G418. Клітини Huh7 являють собою лінію клітин гепатоми, одержану від д-ра Уільяма Мейсона з Центру ракових досліджень Фокс-Чейз (Філадельфія) (W. Mason at Fox Chase Cancer Research Center, Philadelphia). Ці клітини можна вільно придбати в Фокс-Чейзі, і вони широко описані в науковій літературі [Nakabayashi et al., Cancer Res. 42:3858-3863, 1982]. В експериментах, описаних в цьому документі, із препарату транскрибованої *in vitro* репліконові РНК видаляли всю матричну ДНК шляхом триразової послідовної обробки ДНКазою перед електропорацією цієї РНК в клітини Huh7.

Репліконову пробу виконували, як детально описано нижче. Репліконові клітини вміщували в 96-лункові планшети при густині 10,000 клітин на лунку і інкубували при 37°C. Клітини інкубували в середовищі DMEM (середовище Дюльбеко), куди додавали 10% сироватки плоду корови, глутамін, замінні амінокислоти та антибіотик G418 (0,25мг/мл). Після інкубування протягом ночі середовище замінювали середовищем DMEM, яке містило 2% сироватки плоду корови та різні концентрації інгібітора серинпротеази, наприклад, сполуки CU, та/або інтерферону, наприклад, α -2B-інтерферону (IntronA, Schering Plough). Кожну сполуку випробовували в 6-8 різних концентраціях. За одне із граничних значень для діапазону концентрацій обирали високу концентрацію, яка викликала майже повне інгібування нагромадження репліконові РНК через дві доби обробки. Виходячи з цих початкових концентрацій, виконували послідовні розведення, отже, діапазони концентрацій, випробовуваних у репліконовій пробі, охоплювали концентрації, при яких сполуки виявляли високу активність, а також концентрації, які не давали істотного ефекту. Кожну з концентрацій інгібітора серинпротеази HCV випробовували без додавання інтерферону, а також з додаванням 6-8 різних доз інтерферону. Аналогічно, інтерферон випробовували без додавання інгібітора серинпротеази HCV. Після 48-годинного інкубування у присутності випробовуваних сполук середовище видаляли з планшетів і екстрагували всю клітинну РНК із клітин, використовуючи комплект RNeasy-96 (Qiagen Inc., Valencia, CA). Потім цю РНК аналізували кількісним методом RT-PCR TaqMan® (Applied Biosystems, Foster City, CA). Мішенню при аналізі TaqMan® RT-PCR є ген резистентності до неоміцину в репліконові РНК. Планшети мали таку конфігурацію, що забезпечували виконання 5 реплік кожного зразка, обробленого лікарським засобом, і 16 реплік необроблених зразків. Це забезпечувало підвищену статистичну надійність кількісних даних RT-PCR.

Аналіз даних репліконові проби дає дві величини, корисні для оцінювання ефективності потенціальних агентів, активних проти HCV. При кожній випробовуваній концентрації сполуки визначають рівень інгібування нагромадження репліконові РНК, спричиненого сполукою за дві доби обробки, відносно кількості репліконові РНК в необроблених клітинах. Ця характеристика зветься процентом інгібування. Після одержання ряду даних, які відповідають обробленню клітин різними концентраціями сполуки в межах випробовуваного діапазону визначають IC_{50} , тобто концентрацію сполуки, при якій нагромадження репліконові РНК знижується на 50%. Повторними випробуваннями інгібіторів серинпротеази HCV методом репліконові проби з'ясовано, що значення IC_{50} має коефіцієнт варіації (позначається %CV і визначається як $100\% \times \text{стандартне відхилення } IC_{50} / \text{середнє } IC_{50}$) приблизно 20%. Величина IC_{50} використовується для ранжування окремих сполук, випробовуваних за цим методом, на основі їх ефективності як агентів, активних проти HCV. Індивідуальних визначень IC_{50} недосить для оцінювання корисності сполук, вживаних у комбінаціях. Найбільш ефективний аналіз масиву даних, одержаних із застосуванням усіх комбінацій різних

інтерферонів та інгібіторів серинпротеази вимагає оцінки процентів інгібування, як показано в Таблиці 7, із використанням математичних методів, описаних нижче, які призначені для визначення агоністичного, адитивного або синергічного ефекту варіантів комплексної терапії.

Нижче детально описана методика виконання репліконової проби.

Методика кількісного аналізу репліконової РНК HCV методом репліконової проби з використанням TaqMan® RT-PCR

Репліконова проба використовується для вимірювання здатності потенціальних сполук, активних проти HCV, інгібувати нагромадження субгеномної РНК реплікону HCV в клітинах лінії Huh7 [Lohmann et al., Replication of Subgenomic Hepatitis C Virus RNAs in a Hepatoma Cell Line. Science 285: 110-113, 1999]. Цей аналіз включає три операції: (1) підготовку репліконових клітин, опорядження пробних планшетів і нанесення сполук; (2) екстракцію всієї клітинної РНК із репліконових клітин; і (3) аналіз методом RT-PCR (TaqMan®) для вимірювання кількості репліконової РНК в кожному зразку. Репліконова проба вимагає щонайменше 4 днів; однак процес виконання можна переривати між операціями і заморожувати зразки на час перерви. Нижче описана кожна операція методики.

1. Підготовка репліконових клітин, опорядження пробних планшетів і нанесення сполук

1.1 Вирощування культури репліконових клітин

Культуру клітин, використовуваних в репліконовій пробі, продукують, як описано в [роботі Ломана та ін. (Lohmann et al., Replication of Subgenomic Hepatitis C Virus RNAs in a Hepatoma Cell Line. Science 285: 110-113, 1999)]. Після інкубування у пластикових пробірках для культивування із площею поверхні середовища 150см² (Costar), які містять репліконові клітини, при 37°C в атмосфері 5% CO₂ до зливання розводять культуру в об'ємному співвідношенні 1:10 у нових пластикових пробірках для культивування із площею поверхні середовища 150см². Ростом середовищем є середовище DMEM, яке містить 10% сироватки плоду корови (FBS), 1X глутаміну (Glu), 1X замінних амінокислот (NEAA) та 0,25мг/мл G418. Виконують три послідовних пересівання, кожний раз дозволяючи культурам розростатися до зливання з подальшим розведенням клітин у нових пластикових пробірках для культивування із площею поверхні середовища 150см². Ці клітини, названі "вихідними клітинами", потім поділяють на аліквотні частки і зберігають для майбутнього застосування в репліконових пробах. Виконують аналіз на основі методу TaqMan® із метою визначення кількості геномів реплікону HCV в одній клітині; аналіз дає присутність приблизно 150 копій реплікону на одну клітину. Це значення впливає з відношення кількості копій репліконової ДНК до подвоєної кількості копій гену ароВ людини (кількості гаплоїдних геномів).

1.1.1 Вихідні клітини зберігають в рідкому азоті. Щодо клітин, використовуваних у репліконових пробах, то після 3 послідовних пересівань клітини відкидають і використовують нову партію із препаратів, що зберігаються в рідкому азоті.

1.2 Посів клітин на 96-лункові планшети для репліконової проби

1.2.1 Для підготовки 96-лункових планшетів 75% зливої культури репліконвмісних клітин із пластикової пробірки з поверхнею вирощування 75см² обробляють трипсином і знов суспендують в 10мл середовища А. Обробку трипсином виконують шляхом видалення середовища, додавання 1мл трипсину-ЕДТА (0,25% маса/об'єм) і видалення трипсину-ЕДТА. Через 5-10хв клітини видаляють із пластикової пробірки і знов суспендують в середовищі.

1.2.2 Клітини підраховують, використовуючи гематиметр, і встановлюють концентрацію клітин 10⁵/мл.

1.2.3 В кожен лунку висівають 100 мкл суспензії клітин, використовуючи багатоканальну піпетку Impact 2 (фірма Matrix); із однієї суспензії клітин ніколи не засівають більше ніж 96 лунок.

1.2.4 96-лункові планшети інкубують при 37°C протягом ночі.

1.3 Розведення сполук і нанесення на планшети з репліконовими клітинами

1.3.1 Сполуки - інгібітори серинпротеази HCV розчиняють в диметилсульфоксиді (ДМСО) з кінцевою концентрацією 20мМ. Інтерферони суспендують в сольовому розчині з фосфатним буфером, до якого додано 0,1% альбуміну сироватки корови.

1.3.2 Розчини сполук із концентрацією 20мМ розводять диметилсульфоксидом до 1мМ.

1.3.3 50мкл сполуки, розчиненої в ДМСО, додають до 10мл середовища В (концентрація сполуки становить 5мМ, а концентрація ДМСО тепер становить 0,5%) або 20мкл розчину сполуки (1мМ) і 30мкл ДМСО додають до 10мл середовища В (концентрація сполуки становить 2мМ).

1.3.4 Розведення сполуки до кінцевої концентрації виконують шляхом змішування розчину сполуки в середовищі В із середовищем С (містить 0,5% ДМСО). Для одержання бажаних кінцевих концентрацій сполук виконують від 1 до 5 послідовних розведень сполуки середовищем С у 96-комірковому поліпропіленовому блоці з місткістю комірки 2мл.

1.3.5 Виймають планшет із клітинами з інкубатора з температурою 37°C і роблять мітку у правому верхньому кутку кришки і на правій стороні основи. Виливають середовище з 96-лункових планшетів.

1.3.6 В 96-лунковий планшет вносять 100 мкл розчину сполуки в середовищі з кожної комірки 96-коміркового блока, використовуючи піпетку Impact 2.

1.3.7 У всі необроблені лунки згідно з Таблицею 3 для випробовуваних сполук при 1, 3 або 6 різних концентраціях вносять 100мкл середовища С. В Таблиці 3 позначення "Untx" стосується необроблених клітин (контрольних проб; додається ДМСО в тій же концентрації, що й до оброблюваних клітин); позначення "Con." стосується концентрації сполуки.

ТАБЛИЦЯ 3

2 сполуки, 6 концентрацій, 5 реплік

	Сполука 1					Сполука 2					12
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A		untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx
B		con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1
C		con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2
D		con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3
E		con.4	con.4	con.4	con.4	con.4	con.4	con.4	con.4	con.4	con.4
F		con.5	con.5	con.5	con.5	con.5	con.5	con.5	con.5	con.5	con.5
G		con.6	con.6	con.6	con.6	con.6	con.6	con.6	con.6	con.6	con.6
H		untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx

4 сполуки, 3 концентрації, 5 реплік

	Сполука 1					Сполука 2					12
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A		untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx
B		con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1
C		con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2
D		con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3
E		con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1
F		con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2
G		con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3
H		untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx

16 сполук, 1 концентрація, 4 репліки

	Сполука 3					Сполука 4					12
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A		untx	cpd 1	cpd2	cpd 3	cpd 4	cpd 5	cpd 6	cpd 7	cpd 8	untx
B		untx	cpd 1	cpd2	cpd 3	cpd 4	cpd 5	cpd 6	cpd 7	cpd 8	untx
C		untx	cpd 1	cpd2	cpd 3	cpd 4	cpd 5	cpd 6	cpd 7	cpd 8	untx
D		untx	cpd 1	cpd2	cpd 3	cpd 4	cpd 5	cpd 6	cpd 7	cpd 8	untx
E		untx	cpd 9	cpd 10	cpd 11	cpd 12	cpd 13	cpd 14	cpd 15	cpd 16	untx
F		untx	cpd 9	cpd 10	cpd 11	cpd 12	cpd 13	cpd 14	cpd 15	cpd 16	untx
G		untx	cpd 9	cpd 10	cpd 11	cpd 12	cpd 13	cpd 14	cpd 15	cpd 16	untx
H		untx	cpd 9	cpd 10	cpd 11	cpd 12	cpd 13	cpd 14	cpd 15	cpd 16	untx

12 сполук, 1 концентрація, 5 реплік

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
		untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	
A		untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	
B		cpd 1	cpd 1	cpd 1	cpd 1	cpd 1	cpd 7	cpd 7	cpd 7	cpd 7	cpd 7	
C		cpd2	cpd2	cpd2	cpd2	cpd2	cpd 8	cpd 8	cpd 8	cpd 8	cpd 8	
D		cpd 3	cpd 3	cpd 3	cpd 3	cpd 3	cpd 9	cpd 9	cpd 9	cpd 9	cpd 9	
E		cpd 4	cpd 4	cpd 4	cpd 4	cpd 4	cpd 10	cpd 10	cpd 10	cpd 10	cpd 10	
F		cpd 5	cpd 5	cpd 5	cpd 5	cpd 5	cpd 11	cpd 11	cpd 11	cpd 11	cpd 11	
G		cpd 6	cpd 6	cpd 6	cpd 6	cpd 6	cpd 12	cpd 12	cpd 12	cpd 12	cpd 12	
H		untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	

cpd - сполука

1.4 Планшети інкубують 48 год. при 37°C, після чого екстрагують РНК.

Таблиця 4

Перелік обладнання і матеріалів для культивування клітин та внесення сполук

	№ за каталогом або характеристика	Фірма-постачальник
8-канальна піпетка Impact 2, 1250мкл	№2004	Matrix
Поліпропіленовий 96-комірковий блок, 2мл, стерильний	№4222	Matrix
25мл склянки для реагентів, стерильні	№8096	Matrix
Наконечники для піпеток 1250мкл, тип X-tra long	№8255	Matrix
96-лунковий планшет	№3595	Costar
Гемацитометр	Вдосконалений Нейбауера, яскрава лінія, глибина 0,1мм	Reichert
Реактиви		
Середовище DMEM	№51444-79P	JRH
L-глутамін (Glu)	№12403-010	GIBCO-BRL
Замінні амінокислоти (NEAA)	№11140-050	GIBCO-BRL
Сироватка плоду корови (FBS)	№16250-078	GIBCO-BRL

G418	№55-0273	Invitrogen
Диметилсульфоксид (DMSO)	№D-2650	Sigma
Середовища		
Середовище А	DMEM, 10% FBS, 1X NEAA, 1X Glu, 0,25мг/мл G418	
Середовище В	DMEM, 2% FBS, 1X NEAA, 1X Glu	
Середовище С	DMEM, 2% FBS, 1X NEAA, 1X Glu, 0,5% DMSO	
Трипсин- ЕДТА 0,25%	GIBCO-BRL	

2. Повна екстракція клітинної РНК із репліконових клітин

2.1 Вступ

Метою цієї процедури є екстрагування РНК зі зразків культури тканини *in vitro* для кількісного добування вірусної або клітинної РНК у досить чистій формі для аналізу в кількісному визначенні HCV методом RT-PCR.

Для визначення варіації ефективності екстракції РНК до кожного зразка клітин перед екстракцією РНК додавали стандартну кількість вірусу вірусної діареї крупної рогатої худоби (BVDV), РНК якого має певну схожість із РНК HCV. Таким чином, значення рівня РНК BVDV, визначені в кінцевій мультиплексній реакції RT-PCR, мають збігатися між собою для всіх лунок в межах границь варіації, характерних для репліконової проби. Цей внутрішній стандарт ефективності екстракції РНК більш детально розглянуто нижче в розділі, що стосується методу TaqMan®.

Для екстракції РНК застосовується комплект RNeasy-96, що випускається фірмою Qiagen Inc., (Valencia, CA). В цьому способі використовуються 96 мініатюрних колонок із силікагелем, розміщених в пристрої, сумісному з 96-лунковим планшетом для культивування. Технологія екстракції РНК є модифікованим методом Бума (Boom), згідно з яким усі клітинні протеїни та нуклеїнову кислоту, в тому числі нуклеази, спочатку піддають денатурації сильною хаотропічною сіллю (тіоціанатом гуанідинію). В такому середовищі нуклеїнові кислоти мають сильну спорідненість до діоксиду кремнію, яким заповнені диски міні-колонок; навпаки, протеїни та інші домішки не зв'язуються з силікагелем і проходять через колонки. Після промивання колонок розчинами хаотропіка з етанолом зразки частково висушують і вимивають нуклеїнову кислоту з колонок невеликою кількістю води.

Для зниження розходжень в екстракції РНК HCV умови промивання та часткового висушування колонок мають додержуватися дуже ретельно. Присутність незначної кількості етанолу в колонці спричиняє забруднення кінцевої РНК і заважає роботі системи детектування RT-PCR. На всіх етапах цієї процедури слід додержуватися обережності, оскільки вихідні зразки можуть бути біологічно небезпечними, хаотропічна сіль має сильно лужний характер, а також, являючи собою тіоціанат, може виділяти отруйний газоподібний ціаністий водень в разі контакту з кислотним середовищем.

Таблиця 5

Перелік обладнання і матеріалів для екстракції РНК HCV

	№ за каталогом	Фірма-постачальник
Комплект RNeasy 96 (24)	№74183	Qiagen
Колектор QIAvac 96-канальний	№19504	Qiagen
Центрифуга 4-15C для 2×96-лункових планшетів, 6000g×	№81010	Qiagen
Планшетний ротор для 2×96-лункових планшетів	№81031	Qiagen
Етиловий спирт, сорт 200		
8-канальна піпетка Impact 2, 250мкл	№2002	Matrix
8-канальна піпетка Impact 2, 1250мкл	№2004	Matrix
Поліпропіленовий 96-комірковий блок 2мл, стерильний	№4222	Matrix
25мл склянки для реагентів, стерильні	№8096	Matrix
Наконечники для піпеток 1250мкл, тип X-tra long	№8255	Matrix
Наконечники для піпеток 200мкл	№7275	Matrix
Середовище MEM без сироватки	№11095-80	GIBCO-BRL

2.2 Процедура

2.2.1 Лізис клітин

2.2.1.1 Готують лізисний буфер: Для одного 96-лункового планшета додають 150мкл β-меркаптоетанолу (β-ME) і 1 мкл основної культури BVDV (перед додаванням культуру збовтують) до 15мл буферного розчину RLT (компонент комплексу RNeasy-96, Qiagen). Цю культуру готують шляхом інфікування клітин MDBK (клітини нирки крупної рогатої худоби, #CCL-22, постачальник American Type Culture Collection, Manassas VA) BVDV і збирання культури при досягненні піку цитопатичного ефекту (CPE). Інфекційний титр цієї культури становить приблизно 1×10^7 бляшкотвірних одиниць (pfu) на 1мл. При цьому пороговий цикл BVDV (C_i) у випробуванні методом TaqMan® становить приблизно 22. Основну культуру BVDV зберігають у морозильнику при -80°C.

2.2.1.2 Клітини промивають 150мкл безсироваткового середовища MEM (програма 4 для 8-канальної електронної піпетки P1250: Fill 1250, Disp 150×8). Додають у кожну лунку 150мкл лізисного буферу (програма та ж).

2.2.1.3 РНК екстрагують негайно або ж заморожують клітини при -80°C.

2.2.2 Приготування реагентів та матеріалів для екстракції РНК.

2.2.2.1 Занотовують номери партій RPE та комплексу RNeasy-96.

2.2.2.2 RPE: В пляшку RPE (Qiagen) наливають 720мл 100%-ного етанолу і ретельно перемішують. Пляшки з RPE завжди струшують перед використанням.

2.2.2.3 70%-ний етанол: до 350мл 100%-ного етанолу додають 150мл діетилпропілкарбонату (DEPC) і ретельно перемішують.

2.2.3 Приготування РНК із використанням комплексу RNeasy-96

2.2.3.1 Заморожені зразки розморожують при кімнатній температурі протягом 40хв. Одночасно розморожують колонку блока контролю екстракції для кожного планшета. (Контроль екстракції: Блок контролю екстракції RNeasy-96 являє собою сукупність з'єднаних між собою 8 трубок. Кожна трубка містить 170мкл лізату клітин із певним співвідношенням HCV-позитивних та HCV-негативних клітин. Зверху вниз розташовані по дві трубки з контрольними сумішами низького, середнього, високого та нульового рівня. Дивись нижче розділ 2.3)

2.2.3.2. Зразки перемішують шляхом 5-разового набираання в піпетку і випускання з неї. Увесь зразок переносять в колонки 1-10 блока Matrix 2мл із квадратними комірками (програма 1 на P1250: Mix 100×5, Fill 170, Purge).

2.2.3.3 150мкл репліконогового стандарту переносять в колонку 11 (в колонці 12 проб немає).

2.2.3.4 До кожного зразка додають 150мкл 70%-ного етанолу (програма 4 на P1250: Fill 1250, Disp 150).

2.2.3.5 У вакуумний колектор вміщують планшет RNeasy-96 з відповідним номером планшета. Перемішують і переносять суміш лізату з етанолом в планшет RNeasy-96 (програма 1 на P1250: Mix 200, Times 5, Fill 330, Purge). Усі невикористані лунки (звичайно колонку 12) закривають прозорою стрічкою (постачальник фірма Qiagen).

2.2.3.6 Створюють у колекторі вакуум (приблизно 800мбар) для перенесення зразків у міні-колонки.

2.2.3.7 Промивають планшет RNeasy-96 буфером RW1 (Qiagen) по 1000мкл на лунку (програма 2 на P1250: Fill 1000, Disp 1000).

2.2.3.8 Подають вакуум на фільтр через буфер RW1 і спорожнюють фільтр.

2.2.3.9 Промивають планшет RNeasy-96 буфером RPE (Qiagen) по 1000мкл на лунку (програма 2 на P1250).

2.2.3.10 Подають вакуум на фільтр через буфер RPE.

2.2.3.11 Повторюють операцію 2.2.3.9.

2.2.3.12 Подають вакуум на фільтр через буфер RPE і підтримують його протягом 3хв.

2.2.3.13 Сушать планшет RNeasy-96: Вміщують планшет RNeasy-96 у збірну рамку із мікропробірками (постачальник Qiagen), накривають стрічкою AirPore, яка постачається тією ж фірмою, і центрифугують протягом 10хв при 6000gх (центрифуга Qiagen Sigma; 4-15°C).

2.2.3.15 Елюють РНК з планшета RNeasy-96: Переносять планшет RNeasy-96 на верхню частину нової збірної рамки з мікропробірками. В середню частину кожної лунки додають 70мкл води, вільної від РНази (програма 3 на P1250: Fill 850, Disp 70).

2.2.3.16 Інкують 1 хв при кімнатній температурі, після чого накривають планшет свіжою стрічкою AirPore.

2.2.3.17 Центрифугують збірку протягом 4хв при 6000gх на центрифугі Qiagen Sigma 4-15°C. Об'єм елюату становить від 28мкл до 50мкл.

2.2.3.18 Відкидають планшет RNeasy-96, а збірну рамку із пробірками накривають ковпачками, поставленими Qiagen (8 штук на стрічку).

2.2.3.19 Елюйовану РНК зберігають при -80°C або одразу ж аналізують методом TaqMan®.

2.3 Приготування сумішей для контролю екстракції

День 1

2.3.1.1 Висівають $2,5 \times 10^7$ продукуючих реплікон клітин в пластикову пробірку для вирощування з робочою поверхнею 150см² (Т-150).

2.3.1.2 Висівають $2,0 \times 10^6$ клітин Huh7 в пластикову пробірку для вирощування з робочою поверхнею 75см² (Т-75).

2.3.1.3 Інкують протягом ночі при 37°C.

День 2

2.3.1.4 Лізують клітини лізисним буфером.

2.3.1.5 Видаляють надосадову рідину із Huh7 і реплікон-продукуючих клітин і промивають моношар 10мл безсироваточного середовища (MEM).

2.3.1.6 Додають 30мл лізисного буферу (з 1мкл основної культури BVDV на 15мл лізисного буферу) до клітин Huh7, перемішують кількарразовим піпетуванням і переносять лізат клітин в пробірку для центрифугування культур клітин місткістю 50мл із конічним дном.

2.3.1.7 Додають 10,5мл лізисного буферу до реплікон-продукуючих клітин, перемішують кількарразовим піпетуванням і переносять лізат клітин в пробірку для центрифугування культур клітин місткістю 15мл з конічним дном.

2.3.2 Для стандарту екстракції високого рівня:

Аліквоту 170мкл лізату реплікон-продукуючих клітин переносять в ряди 5 і 6 двох рамок Matrix із пробірками місткістю 0,75мл.

2.3.2 Для стандарту екстракції середнього рівня:

Додають 1,0мл лізату реплікон-продукуючих клітин до 9мл лізату клітин Huh7 і ретельно перемішують. Аліквоту 170мкл цієї суміші переносять в ряди 3 і 4 двох рамок Matrix із пробірками місткістю 0,75мл.

2.3.4 Для стандарту екстракції низького рівня:

Додають 50мкл лізату реплікон-продукуючих клітин до 10мл лізату клітин Huh7 і ретельно перемішують. Аліквоту 170мкл цієї суміші переносять в ряди 1 і 2 двох рамок Matrix із пробірками місткістю 0,75мл.

2.3.5 Для нульового стандарту екстракції:

Аліквоту 170мкл лізату клітин Huh7 переносять в ряди 7 і 8 двох рамок Matrix із пробірками місткістю 0,75мл.

2.3.6 Суміші для контролю зберігають при -80°C.

3. Визначення RT-PCR методом TaqMan® і аналіз даних

3.1 Вступ

Кількісний аналіз RT-PCR в реальному масштабі часу застосовується для вимірювання кількості РНК реплікону HCV у кожному зразку. Цю технологію називають також пробою на 5'-нуклеазу на основі PCR і TaqMan®. Аналітичним приладом є призматична система послідовного детектування (7700 Prism Sequence Detection System, Applied Biosystems, Foster City, CA). Цей прилад являє собою по суті часово-мультиплексний флуоресцентний спектрограф із лазерним збудженням, поєднаний із пристроєм для термоцикування. Прилад контролює нагромадження амплікону PCR у кожній лунці 96-лункового планшета на протязі процесу PCR.

3.2 Застосування BVDV як внутрішнього стандарту

Як вказано у попередньому розділі, в кожний зразок вводять позитивний внутрішній стандарт. Він служить мірою ефективності екстракції РНК і свідчить про присутність у зразку домішок, які інгібують TaqMan® PCR. BVDV змішують із хаотропним буфером лізису клітин перед додаванням лізисного буферу до клітин. Хоча позитивний стандарт присутній у кожному зразку, випробування з позитивним внутрішнім стандартом BVDV виконують тільки в разі, якщо дані аналізу РНК реплікону HCV виходять за межі очікуваного діапазону, що свідчить про певні ускладнення з відповідними зразками. Прилад 7700 здатний одночасно контролювати нагромадження двох різних ампліконів PCR в одній і тій же пробірці, що досягається використанням зондів, мічених двома різними флуоресцентними барвниками-репортерами ("мультиплексність"). Конкретні критерії, які вказують на необхідність виконання аналізу TaqMan® на позитивний внутрішній стандарт BVDV, описані в розділі, присвяченому аналізу даних (3.6).

3.3 Зонд та праймери репліконової РНК HCV в методі TaqMan®

У зв'язку з очікуваною генетичною стабільністю і загальною відсутністю вторинної структури РНК в гені стійкості до неоміцину (нео), закодованому в репліконі, застосовуються праймери та зонд, які зв'язуються з цим регіоном. Цей сегмент репліконової РНК простягається від основи 342 до основи 1193 парного реплікону основи 8001 (SEQ ID NO: 1):

```

301 gtgcttgcga gtgccccggg aggtctcgta gaccgtgcac catgagcacg aatcctaacc
361 ctcaaagaaa aaccsaacgt aacaccaacg ggccgcgccat gattgaacaa gatggattgc
421 acgcaggttc tccggccgct tgggtggaga ggctattcgg ctatgactgg gcacaacaga
481 caatcggctg ctctgatgcc gccgtgttcc ggctgtcagc gcaggggcgc ccggttcttt
541 ttgtcaagac cgacctgttc ggtgccctga atgaactgca ggacgaggca gcgcggctat
601 cgtggctggc cagcaggggc gttccttgcc cagctgtgct cgacgttgct actgaagcgg
661 gaaggggactg gctgctattg ggccgaagtgc cggggcagga tctcctgtca tctcaccttg
721 ctcttgccga gaaagtatcc atcatggctg atgcaatgcg gcggctgcat acgcttgatc
781 cggctacctg cccattcgac caccaagcga aacatcgcat cgagcgagca cgtactcgga
841 tggaaagccgg tcttgctgat caggatgatc tggacgaaga gcatacgggg ctcgcgccag
901 ccgaactgtt cggcaggctc aaggcgccga tgcccagcgg cgaggatctc gtcgtgaccc
961 atggcgatgc ctgcttgccg aatatcatgg tggaaaatgg CCGCTTTTCT GGATTCATCG

```

праймер в напрямку 5'-3'

```

1021 aCTGTGCCCC GCTGGGTGTC Ccggaccgct atcaggacat agcgttggct acccgtgata
зонд TaqMan®

```

```

1081 ttgctgaaga gCTTGGCGGC GAATGGGctg accgcttcct cgtgctttac ggtatcgccg
праймер в напрямку 3'-5'

```

```

1141 ctcccgaattc gcagcgcacg gccttctatc gccttcttga cgagttcttc tgagtttaaa

```

3.4 Процедура

3.4.1 Спосіб приготування маточних сумішей їх для NEO та BVDV RT-PCR

Таблиця 5

Перелік обладнання і матеріалів для приготування маточної суміші RT-PCR на 10 планшетах

Обладнання та матеріали	№ для замовлення	Фірма-постачальник
Піпетка 0,5-10мкл	22 47 005-1 2000 Series	Eppendorf
Піпетка 2-20мкл	22 47 015-9 2000 Series	Eppendorf
Піпетка 10-100мкл	22 47 020-5 2000 Series	Eppendorf
Піпетка 50-200мкл	22 47 025-6 2000 Series	Eppendorf
Піпетка 100-1000мкл	22 47 030-2 2000 Series	Eppendorf
Наконечники 1250мкл (Matrix)	№8255	Matrix
Наконечники 200мкл (Matrix)	№7275	Matrix
Наконечники 10мкл (ART)	№2140	Molecular Bioproducts
Наконечники 20мкл (ART)	№2149P	Molecular Bioproducts
Наконечники 100мкл (ART)	№2065E	Molecular Bioproducts
Наконечники 200мкл (ART)	№2069	Molecular Bioproducts
Наконечники 1000мкл (ART)	№2079E	Molecular Bioproducts
Електронна піпетка Impact 2	№2001	Matrix
Пробірки для мікроцентрифуги, 1,5мл, вільні від RNazi	№12450	Ambion
Поліпропіленові пробірки, 14мл	№352059	Falcon
Склянка для реактивів, 25мл	№8096	Matrix
96-лункові планшети для реакцій	№801-0560	Applied Biosystems
Стрічки для оптичних ковпачків	№801-0935	Applied Biosystems
Стерильні халати одноразові	№9515-E	Baxter
Реактиви		
Кислота	0,1н. HCl	Fisher
RNaseZap	№9780	Ambion

Реактив для видалення РНАзи	№7005	Molecular Bioproducts
Комплект 10 наборів реактивів для RT-PCR, 5× реакційний буфер, 25мМ ацетат марганцю, деокси-NTP	№403028	Applied Biosystems
Зонд VIC NEO, 2мкМ (=10×), 550мкл на аликвотну кількість	№450003, на замовлення, 5'-VIC-CTG TGG CCG GCT GGG TGT GG-TAMRA-3' (SEQ ID NO: 2)	Applied Biosystems
Зонд VIC BVDV, 2мкМ (=10×), 550 мкл на аликвотну кількість	№450003, на замовлення, 5'-VIC-CCC TCG TCC ACG TGG CAT CTC GA-TAMRA-3' (SEQ ID NO: 3)	Applied Biosystems
Праймер в напрямку 5'-3' NEO, 3мкМ (=10×). Суміш праймера в напрямку 5'-3' та праймера в напрямку 3'-5', 550 мкл на аликвотну кількість	№4304972, на замовлення, 5'-CCG CTT TTC TGG ATT CAT CG-3' (SEQ ID NO: 4)	Applied Biosystems
Праймер в напрямку 3'-5' NEO, 3мкМ (=10×). Суміш праймера в напрямку 5'-3' та праймера в напрямку 3'-5', 550 мкл на аликвотну кількість	№4304972, на замовлення, 5'-CCC ATT CGC CGC CAA-3' (SEQ ID NO: 5)	Applied Biosystems
Праймер в напрямку 5'-3' BVDV, 3мкМ (=10×). Суміш праймера в напрямку 5'-3' та праймера в напрямку 3'-5', 550мкл на аликвотну кількість	На замовлення, 5'-CAG GGT AGT CGT CAG TGG TTC G-3' (SEQ ID NO: 6), шкала 1,0Мкм очищення водним гелем	Oligos etc
Праймер в напрямку 3'-5' BVDV, 3мкМ (=10×). Суміш праймера в напрямку 5'-3' та праймера в напрямку 3'-5', 550 мкл на аликвотну кількість	На замовлення, 5'-GGC CTC TGC AGC ACC CTA TC-3' (SEQ ID NO: 7), шкала 1,0Мкм очищення водним гелем	Oligos etc
Стандарти РНК NEO	Транскрибована in vitro РНК із плазмиди, що містить частину гену нео реплікону РНК HCV із використанням РНК-полімерази T7. Ця транскрибована in vitro РНК кількісно визначена на основі відомої молекулярної маси транскриптів та УФ-поглинання очищеного розчину транскрипту. Ця РНК розведена, поділена на аликвотні кількості і зберігається при -80°C. Окремі аликвоти розморожують для кожного аналізу TaqMan®	
Зразки РНК для випробувань, виділені із клітин реплікону HCV (розділ 2 цієї методики), 96-лунковий планшет із лунками 10мкл		
Вода, вільна від нуклеаз (не оброблена DEPC)	№9930	Ambion

3.4.2 Приготування реагентів для маточної суміші

3.4.2.1 Очищають бокс, виконавши дві нижчевказані операції, і промивають піпетки реактивом для видалення РНАзи.

- RNase Zap (Ambion, Austin, TX)
- RNase Away (Molecular Bioproducts, San-Diego, CA)

3.4.2.2 Відкривають основний комплект реактивів EZ RT-PCR (Applied Biosystems) і ставлять реакційний буфер 5× на лід, дають реактивам відтанути при кімнатній температурі протягом приблизно 15хв, а потім ставлять їх на лід. Один комплект реактивів EZ RT-PCR можна використати для аналізу двох партій екстрагованої РНК по 96 лунок.

3.4.2.3 Виймають одну пробірку 2мкМ зонду VIC (NEO або BVDV, 550мкл на пробірку) з контейнера при -20°C і ставлять на лід.

3.4.2.4 Виймають одну пробірку 3мкМ суміші праймера в напрямку 5'-3' та праймера в напрямку 3'-5' (NEO або BVDV, 550 мкл на пробірку) з контейнера при -20°C і ставлять на лід.

3.4.2.5 Виймають одну пробірку (30мкл) стандартів транскрипту РНК (10⁸ копій в 10мкл) із контейнера при -80°C і ставлять на лід.

3.4.2.6 Беруть одну пробірку з водою Ambion при кімнатній температурі.

3.4.3 Приготування маточної суміші для одного 96-лункового планшета

3.4.3.1 Піпеткою на 1мл переносять 5× буфер (Applied Biosystems) в пробірку місткістю 14мл; загальний доданий об'єм 1100мкл.

3.4.3.2 Піпеткою на 1мл додають 25мМ розчин ацетату марганцю (Applied Biosystems) в пробірку місткістю 14мл; загальний доданий об'єм 660мкл.

3.4.3.3 Піпеткою на 200мкл додають 165мкл dATP в пробірку місткістю 14мл. Те ж саме виконують для 10мМ dCTP, 20мМ dUTP і 10мМ dGTP.

3.4.3.4 Піпеткою на 1мл додають 550мкл 10×3мкМ суміші праймера в напрямку 5'-3' та праймера в напрямку 3'-5'.

3.4.3.5 Піпеткою на 1мл додають 550мкл 10×2мкМ розчину зонду.

3.4.3.6 Піпеткою на 1мл додають 220мкл rTth ДНК-полімерази (Applied Biosystems).

3.4.3.7 Піпеткою на 100мкл додають 55мкл AmpErase UNG (Applied Biosystems).

3.4.3.8 Піпеткою на 1мл додають 605мкл води Ambion в пробірку місткістю 14мл; кінцевий загальний об'єм становить 4400мкл.

3.4.3.9 Переносять 4400мкл маточної суміші в контейнер місткістю 25мл.

3.4.3.10 Розподіляють по 40мкл в кожну з 96 лунок, застосовуючи 8-канальну піпетку.

3.4.3.11 Переносять 10 мкл екстрагованих невідомих зразків у лунки реакційного планшета, застосовуючи 8-канальну піпетку, послідовно в колонки 1-11. Кожну колонку після переносу закривають.

3.4.3.12 Додають 270мкл води Ambion до 30мкл транскрипту РНК (10^8 копій в 10мкл) для застосування при знятті стандартної кривої і перемішують. Одержана суміш містить 10^7 копій стандартної РНК реплікону HCV в 10мкл для кількісного аналізу.

3.4.4 Підготовка приладу ABI 7700 для кожного аналізу

3.4.4.1 Перед кожним аналізом слід перевірити комп'ютер для ABI 7700 і встановити відповідну конфігурацію робочого столу комп'ютера.

3.4.4.2 Закривають і видаляють надлишкові програми з вінчестера; непотрібні дані видаляють в кошик.

3.4.4.3 Відкривають програму Sequence Detector v1.7 (програмне забезпечення SDS).

3.4.4.5 Відкривають папку "Replicon Assay Runs".

3.4.4.6 Відкривають шаблон "Replicon Assay". Умови роботи пристрою термоцикування, запрограмовані в шаблоні, подані нижче:

Стадія 1: 50°C, 2хв.

Стадія 2: 60°C, 30хв.

Стадія 3: 95°C, 5хв.

Стадія 4: 95°C, 15с.

Стадія 5: 60°C, 60с.

Кількість повторних циклів стадій 4-5: 40.

Шаблонний прилад: діагностика: додаткові опції.

Вибір зображень: дисплей mse.

Вибір зображень: дисплей найкращого наближення.

Вибір інших параметрів: ROX стандартного барвника.

3.4.4.7 "Зберігають" (не "зберігають як...") файл у папці "Replicon Assay Runs".

3.4.4.8 Перевіряють настройку: дають команду "Пуск" (RUN).

3.5 Підготовка даних ABI7700 після циклу аналізу з застосуванням програмного забезпечення SDS

3.5.1 Видаляють планшети із пробами з ABI 7700 і відкидають, навіть не розкриваючи. Це правило значно спрощує проблеми перехресного забруднення PCR в лабораторії.

3.5.2 Одержані дані обробляють, використовуючи програмне забезпечення Sequence Detector System V1.7.

3.5.3 Спочатку задають порогові рівні як значення "за замовчуванням".

3.5.4 Критерії відкидання даних: Можуть відкидатися один із результатів обробки даних або серії з цілих планшетів. Дані можуть бути відкинуті в разі значного відхилення від методики, недостатчі реагента або випадкової невдачі, або ж збоєм в роботі ABI 7700. Для відкидання будь-яких окремих результатів обробки даних із результатів циклу аналізу, який видається нормальним, вони мають відповідати одному або кільком поданим нижче критеріям.

3.5.4.1 Розрахунки порогових циклів. Як правило, застосовують значення за замовчуванням для програмного забезпечення SDS. Якщо C_t зразка найвищої концентрації менше ніж 15, то слід змінити границю зупинення порогового значення на нижче значення, щоб Q зразка найвищої концентрації було більше значення зупинки. Після цієї заміни розрахунків повторюють.

3.5.4.2 Розглядають необхідність відкидання всього ненормального циклу аналізу TaqMan® за критерієм відхилення від середніх значень нахилу та відрізу до точки перетину осі у з лінією, одержаною при аналізі стандартів РНК нео. Прийнятні діапазони цих значень:

значення нахилу має бути в межах від 3,0 до 3,6;

кількість циклів при перетині з віссю у має бути від 36 до 41.

3.5.4.3 Значення, одержані при аналізі TaqMan® для окремих лунок, які випадають із загальної сукупності за критерієм $Rn/\Delta Rn$, можуть бути відкинуті до початку обробки даних, щоб вони не впливали на розрахунки за програмою SDS.

3.5.4.4 Перевіряють і реєструють нешаблонні контрольні значення C_t і впевнюються, що вони перевищують 7,0 C_t ($>100X$) порівняно до C_t для будь-якого зразка, обробленого випробовуваними речовинами.

3.5.5 Зіставляють значення C_t для стандартів РНК HCV із вищезазначеними результатами.

3.5.6 Зіставляють криву для стандартів РНК HCV із вищезазначеними результатами.

3.5.7 В разі виявлення нетипових відхилень посилення для окремих лунок ці лунки ідентифікують і реєструють.

3.5.8 Файл "Результати" переносять із комп'ютера 7700 в інший комп'ютер для аналізу даних із використанням Microsoft Excel.

3.5.9 Сповідчається про будь-яку з перелічених нижче змін у приготуванні або розведенні реактивів:

Новий синтез зонду або праймерів, одержуваних від сторонніх постачальників.

Нове розведення та аліквотні об'єми зонду або праймерів.

Нове приготування стандартів транскрипту РНК.

Нове розведення та аліквотні об'єми стандартів транскрипту РНК.

Нове приготування препарату BVDV.

Нове приготування стандартів для колонки 11.

3.6 Аналіз даних TaqMan®

3.6.1 Копіюють і вставляють номер Q HCV та номер копії з файла результатів TaqMan® і переносять у відповідні комірки макросу аналізу даних репліконової проби системи Microsoft Excel і запускають макрос.

3.6.2 Копіюють таблицю результатів TaqMan® із масиву макросу в інший масив, вводять номер сполуки та номер партії.

3.6.3 Із цього масиву будуть розраховуватися середні значення, стандартне відхилення і коефіцієнт

варіації інгібувальної активності сполуки, а також кількість копій HCV, номер C_t для HCV і номер C_t для BVDV (за наявності), виходячи з усіх окремих результатів, що відповідають усім розбавленням в 5 репліках та контрольній суміші (без випробовуваної сполуки).

3.6.4 Критерії відкидання даних та виконання контрольного аналізу BVDV методом TaqMan®

Перевіряють усі розрахунки. Можуть відкидатися окремі результати обробки даних або цілі серії з цілих планшетів. Дані можуть бути відкинуті в разі значного відхилення від методики, нестачі реагента або випадкової невдачі, або ж збою в роботі ABI 7700. Для відкидання будь-яких окремих результатів обробки даних із результатів циклу аналізу, який видається нормальним, вони мають відповідати одному або кільком поданим нижче критеріям. Стандартне відхилення процента інгібування для активних сполук має бути менше ніж 30%. Стандартне відхилення C_t для кількості копій HCV має бути менше ніж 30%. Стандартне відхилення C_t для HCV по всіх зразках має бути менше ніж 0,5; для більшості зразків воно звичайно становить приблизно від 0,1 до 0,3. Якщо стандартне відхилення C_t для HCV перевищує 0,5, то повертаються до таблиці вихідних даних і перевіряють номери C_t для 5 реплік. Якщо номер C_t для будь-якої лунки відрізняється на $2C_t$ від середнього номера C_t для 5 реплік, то цю лунку слід виключити з аналізу даних. Якщо незвичайні номери C_t виявлено більше ніж для 3 лунок (у різних колонках), то слід виконати аналіз TaqMan® із внутрішнім стандартом BVDV. Якщо виявлено відхилення від закономірності в даних аналізу BVDV, то сполуку слід випробувати знову.

3.6.5 Розрахунок IC_{50}

Копіюють і переносять дані по середнім значенням інгібування та стандартному відхиленню у форму сигмоїдної кривої доза-реакція з застосуванням калькулятора змінного нахилу, який використовує метод нелінійної регресії. З допомогою цього підходу обчислюють IC_{50} , користуючись двома способами: фіксуючи тільки максимум при 100%-ному інгібуванні або фіксуючи максимум при 100%-ному інгібуванні і мінімум при 0% інгібування. Потім відмічають спосіб, який дає найкраще наближення для кожної сполуки. Найбільш надійне значення IC_{50} дає розрахунок, який має найменше стандартне відхилення. Якщо значення IC_{50} , обчислені двома вищезазначеними варіантами наближення, відрізняються більше ніж удвічі або якщо стандартне відхилення IC_{50} перевищує значення IC_{50} , то сполуку слід випробувати знову при уточнених концентраціях.

Обчислення ефективності інгібіторів серинпротеази HCV в комбінації з інтерферонами

Ефект інгібітора серинпротеази HCV (HSPi) в комбінації з інтерфероном можна оцінити при виконанні репліконової проби шляхом побудови кривої доза-реакція для HSPi у присутності різних концентрацій інтерферону або побудови кривої доза-реакція для інтерферону у присутності різних концентрацій HSPi. Метою є визначення збільшення або зменшення нагромадження вірусної РНК у порівнянні зі значенням, очікуваним в разі адитивної дії обох лікарських засобів на згадану РНК. Більш конкретно, адитивність визначається за Лове [Lowe, Die Quantitation Probleme der Pharmakologic, Ergebn. Physiol. 27, 47-187, 1928]. Це поняття визначається, як описано нижче. Нехай $D_{E,INF}$ є концентрація інтерферону, яка дає ефект E , і $D_{E,HSPi}$ - концентрація інгібітора протеази, яка дає ефект E .

Тоді відсутність взаємодії, або адитивність за Лове, визначається поданим нижче співвідношенням, де комбінація концентрації D_1 інтерферону і концентрації D_2 HSPi дає ефект E .

$$1 = \frac{D_1}{D_{E,INF}} + \frac{D_2}{D_{E,HSPi}} \quad (1)$$

Ступінь синергії або антагонізму виражають у термінах кривих ізоефекту, або ізобол. Комбінація (D_1, D_2) є точка на графіку, де осями є концентрації інтерферону та HSPi (Фіг.2). Усі такі комбінації, які забезпечують ефект E , утворюють ізоболу ефекту E . Точки ($D_{E,INF}, 0$) і ($0, D_{E,HSPi}$) обов'язково є точками ізоболі. Якщо виконується умова адитивності (1), то ізоболі є прямими лініями, які з'єднують точки ($D_{E,INF}, 0$) і ($0, D_{E,HSPi}$).

Ізоболі, вигнуті вниз, вказують на синергію, а ізоболі, вигнуті вгору - на антагонізм. Згідно з рекомендаціями Беренбаума [M.C. Berenbaum, The expected effect of a combination of agents: the general solution. J. Theor. Biol. 114, 413-431, 1985] і Греко, Парка та Растома [Greco, Park, Rustom, Application of a New Approach for the Quantitation of Drug Synergism to the Combination of cis-Diamminedichloroplatinum and 1- β -D-Arabinofuranosylcytosine, Cancer research, 50, 5318-5327, 1990], для врахування синергії або антагонізму до рівняння (1) додають додатковий член. Таке рівняння визначає поверхню реакції, яку можна нормувати до процентних значень порівняно з контрольними цифрами для всіх комбінацій терапії. Контурні графіки для цієї нормованої поверхні реакції є ізоболі.

Модель поверхні реакції припускає сигмоїдну криву доза-реакція для будь-якої сполуки, визначену рівнянням (2).

$$E = \frac{E_{max}}{1 + \left(\frac{[Drug]}{IC_{50}} \right)^m} + B \quad (2)$$

Концентрації, які дають тільки певний рівень активності E , визначаються рівнянням (3)

$$D_{E,INF} = IC_{50,INF} \left(\frac{E - B}{E_{max} - E + B} \right)^{1/m_{INF}} \quad (3)$$

$$D_{E,HSPi} = IC_{50,HSPi} \left(\frac{E - B}{E_{max} - E + B} \right)^{1/m_{310}}$$

Щоб задовольнити модель Греко та інших, комбінована дія лікарських засобів має відповідати рівнянню (4) для кожної комбінації лікарських засобів, яка дає рівень реакції E.

$$1 = \frac{[INF]}{IC_{50INF} \left(\frac{E-B}{E_{max}-E+B} \right)^{1/m_{INF}}} + \frac{[HSPi]}{IC_{50HSPi} \left(\frac{E-B}{E_{max}-E+B} \right)^{1/m_{310}}} + \frac{\alpha [INF][HSPi]}{IC_{50INF} IC_{50HSPi} \left(\frac{E-B}{E_{max}-E+B} \right)^{1/m_{INF}} \left(\frac{E-B}{E_{max}-E+B} \right)^{1/m_{310}}} \quad (4)$$

Параметр α є кількісною характеристикою взаємодії. Нульове значення α означає відсутність взаємодії, або адитивність, оскільки при $\alpha=0$ рівняння зводиться до (1). При даних значеннях IC_{50} , нахилу за Хіллом (m), максимальному (E_{max}) і мінімальному (B) значення ефекту це рівняння можна розв'язати і визначити ефект при будь-яких терапевтичних концентраціях [INF] і [HSPi]. Тому це рівняння визначає поверхню реакції. При експерименті, де [INF] і [HSPi] варіюють, параметри можна вибрати, використовуючи нелінійну зважену регресію методом найменших квадратів. Параметр α можна співвіднести з мірою синергії S [P.S. Hewlett, Measurement of potencies of drug mixtures. Biometrics, 25, 477-487, 1969], яку безпосередньо визначають з ізоболі при 50%-ному ефекті. S є відношення відстані між початком координат та ізоболою, що відповідає адитивності, до відстані між початком координат та ізоболою, що відповідає наблизеним даним, по лінії, проведеній під кутом 45° до осей ($S=ON/OM$ на Фіг.3). Відповідне співвідношення має форму $\alpha=4(S^2-S)$.

За методом підгонки поверхні реакції та визначення параметру синергії α з рівнем його значущості, розглянутим Греко та іншими (1990), оцінюється ступінь синергії в серії експериментів по випробуванню HSPi в комбінаціях із кількома різними інтерферонами. Проте необхідно визначати статистичну вагу спостережень при меншому відліку більше, ніж при високому. Відліки безпосередньо пов'язані із процентом відносно контролю, який характеризує ефект E. Використовуючи методи, описані в [монографії Карола і Руперта (R.J. Carroll, D. Rupert, Transformation and Weighting in Regression, Chapman and Hall, New York 1988)], можна показати, що змінність від лунки до лунки зростає пропорційно квадрату середнього значення процента контролю. Тому спостереження зважують по одному через квадрат підігнаного значення процента контролю (E). Дисперсія та зважування, що використовуються при аналізі цих експериментів, сумісні зі співвідношеннями змінності, які спостерігали дослідники, що розглядали методи обробки даних випробувань із радіоактивними лігандами [Фінні - D.J. Finney, Radioligand Assay, Biometrics, 32, 721-740, 1976; Дадлі та ін. - R.A. Dudley, P. Edwards, R.P. Ekins, I.G.M. VcKinzie, G.M. Raab, D. Rodbard and R.P.C. Rodgers, Guidelines for Immunoassay Data Processing, Clinical Chemistry, 31/8, 1264-1271, 1985].

Результати

У початковому експерименті інгібітор серинпротеази HCV - Сполуку CU випробовували в діапазоні концентрацій від 3мкМ до 0,0123мкМ, тобто відношення верхньої й нижньої границь діапазону становило 244. Концентрації α -2В-інтерферону варіювали в межах від 30 одиниць (ОД) на зразок до 0,0096 ОД на зразок, тобто відношення максимальної концентрації до мінімальної становило 3125. Як показано в Таблиці 7, Сполука CU, вжита як єдиний лікарський засіб має IC_{50} 0,48мкМ, а інтерферон - IC_{50} 2,19 ОД. З урахуванням точності репліконової проби, яка становить приблизно 20%, можна стверджувати, що додавання α -2В-інтерферону призводить до підвищення інгібування нагромадження репліконової РНК, яке залежить від дози. Наприклад, обробка клітин 0,333мкМ Сполуки CU викликає 28%-не інгібування нагромадження репліконової РНК. Обробка ж клітин комбінацією 0,333мкМ Сполуки CU, що становить 71% дози IC_{50} (0,469мкМ), і 0,24 ОД α -2В-інтерферону, що відповідає 11% значення IC_{50} α -2В-інтерферону (2,05 ОД) інгібує нагромадження репліконової РНК на 49%. Таким чином, 0,71% дози IC_{50} одного агента в комбінації з 11% IC_{50} другого дає 49% інгібування нагромадження репліконової РНК. Використовуючи інтуїтивний підхід до визначення синергічності, антагоністичності або адитивності комплексної обробки, можна було б очікувати, що в разі адитивності ефекту такої обробки відповідні частки обох доз IC_{50} , необхідні для 49%-ного інгібування нагромадження репліконової РНК, мають становити 98%. Наші експериментальні результати показують, що згаданий рівень інгібування нагромадження репліконової РНК досягається при застосуванні 71%+11%, тобто 82% дози IC_{50} , а не 98%, прогнозованих для адитивного ефекту комплексної обробки. Таким чином, при згаданих концентраціях сполук ефект виявляється синергічним, оскільки для 49%-ного інгібування нагромадження репліконової РНК необхідні менші частки доз IC_{50} кожної сполуки, ніж у разі використання кожної сполуки окремо, коли потрібні були б частки 98% доз IC_{50} . Результати такої комплексної обробки показані в Таблиці 7 і графічно представлені на Фіг.1.

ТАБЛИЦЯ 7

Інгібування нагромадження репліконої РНК після 48-годинної обробки

Сполукою CU і α -2В-інтерфероном окремо і в комбінаціях

Сполука CU (конц.)	α -2В-інтерферон (одиниці)						
	30 U	6U	1,2 U	0,24 U	0,048 U	0,0096 U	0U
3 мкМ	99%	99%	99%	99%	98%	98%	98%
1 мкМ	99%	98%	96%	95%	92%	93%	88%
0,333 мкМ	94%	87%	66%	49%	33%	27%	28%
0,1111 мкМ	93%	79%	46%	29%	12%	15%	11%
0,0370 мкМ	92%	78%	44%	21%	2%	7%	8%
0,0123 мкМ	92%	78%	44%	20%	19%	19%	5%
0 мкМ	89%	73%	38%	16%	8%	12%	0%

Ці початкові результати, одержані, як вказано вище, при застосуванні репліконої проби *in vitro* і простому аналізі адитивності даних, одержаних при цьому випробуванні, свідчать, що комбінована обробка репліконових клітин IC₅₀ дає щонайменше адитивний антивірусний ефект, а, можливо, синергічний антивірусний ефект.

Подані вище дані були повторно проаналізовані з застосуванням формального математичного апарату, описаного вище, з метою встановлення наявності синергічної, адитивної, або антагоністичної взаємозалежності між інгібітором серинпротеази HCV CU та α -2В-інтерфероном. Результати цього аналізу показані в числовій формі в Таблиці 8 і графічно на Фіг.4.

В Таблиці 8 представлено подальші результати, одержані при репліконових пробах після 48-годинної обробки репліконвмісних клітин різними інгібіторами серинпротеази HCV згідно з цим винаходом і кількома різними інтерферонами окремо і в комбінаціях. Ми підкреслюємо, що стандартне відхилення вимірювань значень інгібування репліконої РНК HCV в репліконовій пробі становить приблизно 20%. Сполуки випробовувалися в широких діапазонах концентрацій, що включали порівняно низькі концентрації сполук, які не спричиняли істотного інгібування нагромадження репліконої РНК HCV. Внаслідок 20%-ного стандартного відхилення результатів проби деякі окремі результати обробки даних відповідають від'ємним числам. Від'ємні значення інгібування вказують, що в зразках, оброблених відповідними сполуками, кількість молекул репліконої РНК HCV в середньому більше, ніж у "сліпих" зразках.

ТАБЛИЦЯ 8

Інгібування нагромадження репліконої РНК після 48-годинної обробки різними

інгібіторами серинпротеази HCV і різними інтерферонами окремо і в комбінаціях

Експеримент № 1

		α -2В-інтерферон (одиниці)						
		30,00	6,00	1,20	0,24	0,048	0,0096	0,000
Сполука CU (мкМ)	0,000	89%	73%	38%	16%	8%	12%	0%
	0,012	92%	78%	44%	20%	19%	19%	5%
	0,037	92%	78%	44%	21%	2%	7%	8%
	0,111	93%	79%	46%	29%	12%	15%	11%
	0,333	94%	87%	66%	49%	33%	27%	28%
	1,000	99%	98%	96%	95%	92%	93%	88%
	3,000	99%	99%	99%	99%	98%	98%	98%

Експеримент № 2

		α -2А-інтерферон (одиниці)						
		30,00	6,00	1,20	0,24	0,048	0,0096	0,000
Сполука CU (мкМ)	0	86%	61%	27%	4%	-7%	5%	0%
	0,0123	87%	66%	17%	-23%	8%	8%	10%
	0,37	85%	62%	13%	-2%	0%	-1%	1%
	0,1111	87%	68%	37%	20%	-6%	12%	10%
	0,333	92%	77%	58%	41%	26%	25%	44%
	1	98%	96%	90%	86%	84%	83%	85%
	3	99%	99%	98%	98%	98%	98%	98%

Експеримент № 3

Сполука CU (мкМ)

	3	1,5	0,75	0,375	0,1875	0,0938	0,0469	0,0234	0
0	98%	93%	62%	23%	12%	-2%	-4%	-2%	0
0,049	98%	95%	70%	39%	12%	2%	6%	9%	3%
0,123	98%	95%	70%	43%	15%	7%	2%	5%	2%
0,307	98%	95%	73%	46%	16%	14%	7%	19%	-3%
0,768	98%	95%	82%	56%	43%	34%	28%	32%	28%
1,920	98%	98%	87%	71%	51%	54%	49%	52%	45%
4,8	99%	98%	92%	82%	74%	71%	69%	71%	59%
12,0	99%	98%	96%	89%	87%	85%	85%	85%	80%
30,0	99%	99%	98%	95%	93%	92%	92%	93%	89%

Експеримент № 4

Сполука CU (мкМ)

	3	1,5	0,75	0,375	0,1875	0,0938	0,0469	0,0234	0
0	98%	94%	74%	38%	17%	3%	-1%	6%	0%
0,049	98%	93%	60%	22%	29%	21%	-9%	-6%	6%
0,123	98%	93%	67%	29%	21%	12%	3%	2%	-8%
0,307	98%	93%	66%	29%	22%	4%	-3%	-4%	10%
0,768	98%	95%	67%	46%	24%	21%	20%	9%	15%
1,920	98%	96%	73%	48%	43%	44%	27%	33%	29%
4,8	98%	97%	82%	61%	61%	59%	52%	55%	43%
12,0	99%	98%	91%	75%	76%	72%	71%	74%	73%
30,0	99%	98%	96%	89%	86%	85%	84%	84%	83%

Експеримент № 5

Сполука CU (мкМ)

	3	1,5	0,75	0,375	0,1875	0,0938	0,0469	0,0234	0
0	98%	95%	65%	24%	-1%	-14%	-14%	-12%	0
0,9375	97%	95%	72%	41%	17%	11%	12%	6%	17%
1,875	97%	95%	71%	40%	31%	18%	18%	11%	4%
3,75	98%	96%	75%	44%	38%	25%	34%	18%	17%
7,5	98%	96%	82%	61%	42%	37%	25%	26%	36%
15	98%	97%	84%	64%	59%	61%	56%	51%	53%
30	98%	98%	90%	79%	72%	68%	65%	68%	68%
60	98%	98%	93%	87%	80%	80%	74%	77%	82%
120	98%	98%	95%	92%	86%	87%	86%	86%	87%

Експеримент № 6

Сполука ЕС (мкМ)

	3	1,5	0,75	0,375	0,1875	0,0938	0,0469	0,0234	0
0	96%	93%	81%	56%	29%	23%	19%	1%	0
0,0492	96%	92%	80%	60%	31%	15%	19%	29%	6%
0,1229	96%	94%	78%	58%	32%	13%	20%	20%	4%
0,3072	97%	95%	82%	60%	38%	32%	34%	42%	23%
0,768	97%	95%	87%	66%	43%	41%	46%	43%	25%
1,920	98%	97%	90%	73%	62%	51%	54%	58%	47%
4,8	98%	97%	94%	87%	76%	73%	78%	76%	69%
12,0	98%	98%	96%	92%	86%	86%	86%	85%	84%
30,0	98%	98%	96%	96%	93%	92%	92%	95%	91%

Експеримент № 7

Сполука ЕС (мкМ)

	3	1,5	0,75	0,375	0,1875	0,0938	0,0469	0,0234	0
0	96%	92%	81%	47%	28%	17%	-1%	-8%	0
0,0492	96%	93%	78%	58%	21%	8%	-12%	10%	-17%
0,1229	95%	93%	79%	64%	14%	5%	14%	7%	-22%
0,3072	95%	91%	80%	64%	22%	15%	5%	2%	-5%
0,768	96%	95%	81%	64%	34%	21%	19%	20%	4%
1,920	96%	95%	88%	78%	44%	41%	19%	33%	21%
4,8	97%	95%	91%	85%	60%	58%	60%	53%	49%
12,0	97%	97%	95%	91%	77%	72%	76%	70%	71%
30,0	98%	98%	97%	94%	91%	86%	85%	85%	84%

Експеримент № 8

Сполука CU (мкМ)

		3	1,5	0,75	0,375	0,1875	0,0938	0,0469	0,0234	0
β-інтерферон (одиниці)	0	97%	95%	77%	34%	16%	6%	-7%	0%	0
	0,2344	98%	97%	83%	49%	31%	19%	-21%	-7%	1%
	0,4688	98%	96%	84%	56%	39%	27%	10%	-3%	21%
	0,9375	98%	97%	91%	73%	54%	42%	31%	15%	30%
	1,875	98%	98%	95%	80%	65%	58%	65%	60%	60%
	3,75	98%	98%	97%	92%	86%	81%	77%	73%	79%
	7,5	99%	98%	98%	96%	93%	93%	93%	90%	92%
	15,0	99%	99%	99%	97%	97%	96%	97%	95%	96%
	30,0	99%	99%	99%	99%	98%	99%	98%	98%	97%

Експеримент № 9

Сполука EP (мкМ)

		8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	0
α-2В-інтерферон (одиниці)	0	94%	96%	96%	92%	64%	36%	23%	8%	0
	0,0492	95%	96%	96%	91%	67%	25%	28%	8%	3%
	0,1229	95%	97%	96%	91%	65%	44%	4%	11%	4%
	0,3072	95%	97%	96%	91%	71%	46%	20%	8%	20%
	0,768	96%	97%	97%	93%	75%	49%	36%	24%	24%
	1,92	96%	97%	97%	94%	82%	67%	49%	52%	54%
	4,8	96%	98%	97%	96%	90%	79%	75%	75%	70%
	12	97%	98%	98%	97%	94%	89%	89%	87%	83%
	30	97%	98%	98%	98%	96%	94%	94%	95%	92%

Експеримент № 10

Рибавірин (мкМ)

		200	80	32	12,8	5,12	2,048	0,8192	0,3277	0
α-2В-інтерферон (одиниці)	0	85%	62%	43%	3%	-8%	-17%	-22%	-6%	0
	0,0492	87%	66%	48%	44%	11%	-4%	-10%	11%	-7%
	0,1229	84%	64%	53%	40%	26%	-12%	-5%	11%	-9%
	0,3072	86%	70%	62%	44%	28%	1%	6%	14%	7%
	0,7680	90%	80%	72%	65%	38%	30%	28%	44%	29%
	1,92	93%	85%	77%	76%	61%	57%	58%	50%	46%
	4,8	96%	92%	87%	83%	82%	74%	71%	77%	72%
	12	97%	95%	93%	91%	90%	89%	90%	89%	85%
	30	98%	97%	96%	95%	94%	94%	93%	95%	94%

Як показано на Фіг.4-13, де графічно представлені дані Таблиці 8, оброблені за вищеописаним математичним методом визначення синергії, ізоболі для всіх випробуваних комбінацій інгібіторів серинпротеази HCV з інтерферонами вигнуті вниз, що вказує на те, що антивірусний ефект згаданих варіантів обробки за даними репліконової проби є синергічним. Одержані результати подано в Таблиці 9, де представлено відносні рівні синергічності при комплексній обробці та значення IC₅₀ для антивірусних сполук, використаних окремо. Ключовими елементами Таблиці 9 є значення α та ρ для проведених аналізів. Показник α є мірою максимального відхилення ізобол для кожної комплексної обробки. Нульове значення α вказує на адитивність, від'ємне значення - на антагонізм, а значення більше одиниці, які спостерігаються при комплексній обробці вищезгаданими інгібіторами серинпротеази HCV та інтерферонами, свідчать про синергічність. Чим більше параметр α, тим вище синергічність. Як показано в Таблиці 9, для комбінацій інгібіторів серинпротеази HCV та інтерферонів, навіть якщо не брати до уваги рівні значущості в кожному експерименті, t-тест для 9 експериментів при середньому α=0 (тобто у відсутності взаємодії) дає значення ρ=0,00014, що свідчить про високу значущість результатів.

Розрахунок синергії на основі методу Греко-Растома [Greco, Rustom, Application of a New Approach for the Quantitation of Drug Synergism to the Combination of cis-Diamminedichloroplatinum and 1-β-D-Arabinofuranosylcytosine, Cancer research, 50, 5318-5327, 1990], застосований при цьому аналізі, є ідеальним засобом для оцінки експериментальних даних такого типу, який можна одержати при застосуванні репліконової проби. Існують інші методи, які застосовуються для дослідження антивірусних сполук, наприклад, метод Прітчарда й Шипмена [M.N. Pritchard, C. Shipman, Jr., "A three-dimensional model to analyze drug-drug interactions (review)", Antiviral Res. 14: 181-206, 1990]. Застосування їх способу обчислення синергії до даних, представлених в Таблиці 8, також свідчить, що комплексна обробка репліконових клітин інгібітором серинпротеази HCV та інтерфероном дає синергічне інгібування нагромадження репліконової РНК HCV (ці дані не показані).

Таблиця 9

Відносні рівні синергічності для комплексної обробки
та значення IC₅₀ для антивірусних сполук, вживаних окремо

Експеримент	Інгібітор серинпротеази HCV (HSPi)	інтерферон (INF)	IC ₅₀ INF (одиниці)	IC ₅₀ HSPi (мкМ)	α (SE) ¹	Значення $p < 0$
1	Сполука CU	INF α -2B	2,05	0,469	0,477 (0,09)	<0,0001
2	Сполука CU	INF α -2A	3,72	0,446	0,770 (0,12)	<0,0001
3	Сполука CU	INF α -2B	2,36	0,587	0,730 (0,08)	<0,0001
4	Сполука CU	INF α -2A	5,67	0,633	0,438 (0,08)	<0,0001
5	Сполука CU	INF τ	13,22	0,605	0,328 (0,07)	<0,0001
6	Сполука EC	INF α -2B	2,53	0,384	0,516 (0,10)	<0,0001
7	Сполука EC	INF α -2A	5,50	0,312	1,24 (0,20)	<0,0001
8	Сполука CU	INF β	1,82	0,466	0,551 (0,09)	<0,0001
9	Сполука EP	INF α -2B	3,06	0,426	0,490 (0,12)	<0,0001
10	Рибавірин	INF α -2B	1,22	145	-0,24 (0,067)	0,0004

¹(SE) - стандартна похибка

Іншим засобом оцінки синергічної природи обробки антивірусними препаратами HCV із використанням інгібіторів серинпротеази HCV згідно з цим винаходом та інтерферонів є застосування вищеописаних методів для оцінювання способом репліконової проби сучасної стандартної комплексної терапії HCV, тобто вживання α -2B-інтерферону в комбінації з рибавірином. Останній рядок таблиці 9 свідчить, що параметр α для комбінації α -2B-інтерферону з рибавірином є від'ємним числом, тобто, що існує незначний антагонізм між цими двома лікарськими засобами. Цей факт додатково підкреслює значення комплексних обробок, описаних в цьому документі, з застосуванням інгібіторів серинпротеази HCV згідно з цим винаходом в комбінації з інтерферонами, оскільки такі комбінації є явно синергічними, тоді як стандартний спосіб терапії HCV (α -2B-інтерферон в комбінації з рибавірином) не є синергічним за даними репліконової проби.

Подане вище зіставлення комплексних обробок із застосуванням інгібіторів серинпротеази HCV згідно з цим винаходом в комбінації з інтерферонами та обробки α -2B-інтерфероном в комбінації з рибавірином однозначно вказує, що за даними репліконової проби перші є синергічними, а остання - ні. Експериментальні результати репліконової проби свідчать, що в разі застосування інтерферону в комбінації з інгібітором серинпротеази HCV ефективною є значно менша доза інтерферону, ніж потрібна при застосуванні α -2B-інтерферону в комбінації з рибавірином. Репліконова проба є корисною модельною системою випробування сполук, потенційно активних проти HCV, і на цей час широко використовується для ефективного прогнозування активності сполук проти HCV. [Дивись, наприклад, роботи Блайта та інших (Blight et al., Efficient Initiation of HCV RNA Replication in Cell Culture. Science 8; 290: 1972-1974, 2000) і Чунга та інших (Chung et al., Hepatitis C virus replication is directly inhibited by INF- α in a full-length binary expression system. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 98(17): 9847-52, 2001)]. Рибавірин, вживаний окремо, має низьку ефективність послаблення нагромадження репліконової РНК HCV в репліконовій пробі (дивись Табл.8, експеримент 10 і останній рядок Табл.9). Цей результат суперечить дослідженням *in vivo*, де вжитий окремо рибавірин не справляє значного терапевтичного ефекту при лікуванні HCV. Навпаки, в репліконовій пробі, з поправкою на цитотоксичність, як вказано нижче, рибавірин має IC₅₀ 145мкМ. Цей результат можна пояснити тим, що в репліконовій пробі можна оцінювати високі концентрації рибавірину, які неможливо застосовувати в терапії людини внаслідок цитотоксичності *in vivo* [дивись Чутапутті - A. Chutaputti, Adverse effects and other safety aspects of the hepatitis C antivirals. Journal of Gastroenterology and Hepatology, 15, Suppl. E156-63, 2000].

Таке оцінювання обов'язково вимагає врахування цитотоксичності рибавірину. Ця токсичність проявляється у пацієнтів і в випробуваннях на культурах клітин [Шифман та інші - M.L. Shiffmann, S.B. Verbeke, P.M. Kimball, Alpha interferon combined with ribavirin potentiates proliferative suppression but not cytokine production in mitogenically stimulated human lymphocytes. Antiviral research, 48(2): 91-9, 2000]. В експериментах, описаних в цьому документі, цитотоксичність рибавірину при виконанні репліконової проби спостерігали і вимірювали двома способами. Як при випробуванні метаболізму ХТТ для визначення життєздатності репліконових клітин [Рем та інші - N.W. Roehm, G.H. Rodgers, S.M. Hatfield, A.L. Glasebrook, An improved colorimetric assay for cell proliferation and viability utilizing the tetrazolium salt XTT. Journal of Immunol. Methods, 142(2): 257-65, 1991], так і при кількісному випробуванні RT-PCR методом TaqMan®, де вимірюється вміст месенджер-РНК гліцеральдегід-3-фосфат-дегідрогенази (GAPDH) в оброблених клітинах у порівнянні з необробленими способом репліконової проби [Брінк та ін. - N. Brink, M. Szamel, A.R. Young, K.P. Wittern, J. Bergemann, Comparative quantification of IL-1 β , IL-10, IL-10r, TNF α and IL-7 mRNA levels in UV-irradiated human skin *in vivo*. Inflammation Res. 49(6): 290-6, 2000] спостерігається значна цитотоксичність, індукована рибавірином, проте вона враховується шляхом введення поправок, як описано нижче. Припускається, що рівень месенджер-РНК GAPDH, яка є конститутивно вираженим підтримуючим геном, однаковий у всіх життєздатних клітинах. Із вимірювань рівнів месенджер-РНК GAPDH у клітинах, оброблених інгібітором транскрипції актиноміцином D, відомо, що період напіврозпаду месенджер-РНК GAPDH становить всього кілька годин (дані не наведені). Таким чином, припускається, як це роблять інші автори, які застосовують технологію TaqMan® для визначення рівнів конкретних месенджер-РНК в клітинах людського організму, що рівні месенджер-РНК GAPDH пропорціональні кількостям життєздатних клітин (VCN) у будь-якому конкретному зразку, причому виконується співвідношення $VCN = 2^{(40 - Ct_{m-РНК\ GAPDH})}$. Розраховують VCN для кожної лунки репліконової проби і ділять кількість копій репліконової РНК HCV в конкретній лунці на VCN для цієї лунки. Це розраховане відношення потім використовують замість кількості копій HCV для обчислення інгібування ("Середнє інгібування з використанням відношення" на Фіг.14). Без коригування результатів репліконової проби на цю цитотоксичність вона сприймається як хибне додатне інгібування нагромадження репліконової РНК HCV. При виконанні репліконової проби припускається, що

виміряне інгібування нагромадження репліконої РНК HCV є сума реального інгібування нагромадження репліконої РНК HCV і уявного інгібування нагромадження репліконої РНК HCV внаслідок цитотоксичності. Крім того, з урахуванням тісної кореляції між результатами вимірювання цитотоксичності методом ХТТ і її визначення за даними про месенджер-РНК GAPDH, одержаними методом TaqMan®, припускається, що інгібування нагромадження месенджер-РНК GAPDH під впливом сполук, випробовуваних методом репліконої проби, є надійним кількісним показником інгібування нагромадження репліконої РНК HCV внаслідок цитотоксичності. Таким чином, справжню активність проти HCV певної сполуки, визначену методом репліконої проби, з поправкою на загальну цитотоксичність можна визначити шляхом ділення кількості молекул репліконої РНК HCV, визначеної для кожного зразка, на VCN, тобто нормалізації на кількість життєздатних клітин у кожному зразку. На Фіг.14А показано оцінку справжньої активності рибавіріну проти HCV, визначену з даних репліконої проби з застосуванням описаного методу ("Середнє інгібування з використанням відношення"). Значення IC_{50} для рибавіріну найдоцільніше розраховувати за цим методом. На Фіг.14А "Середнє інгібування, вихідне" показує некориговану IC_{50} рибавіріну, яка становить приблизно 80мкМ, тоді як скориговане значення IC_{50} , обчислене із кривої "Середнього інгібування з використанням відношення", становить приблизно 145мкМ. Слід зазначити, що різниця між коригованим і виміряним значеннями інгібування нагромадження репліконої РНК HCV під впливом α -2В-інтерферону (Фіг.14В) є незначущою внаслідок приблизно 20%-ного коефіцієнту варіації репліконої проби. Аналогічно α -2В-інтерферону, інгібітори серинпротеази HCV, випробовувані в цьому прикладі, не виявляють значної цитотоксичності в застосовуваних концентраціях. Це з'ясовано випробуваннями ХТТ, де знайдено такі значення TC_{50} для різних сполук: CU=64,7мкМ, EP>10мкМ, ES>50мкМ. Ці значення TC_{50} перевищують у 20-140 разів значення IC_{50} , представлені в Таблиці 9. Таким чином, цитотоксичність цих сполук не має значного впливу на нагромадження репліконої РНК HCV при репліконій пробі в межах точності цієї проби, оскільки така цитотоксичність проявляється тільки при концентраціях інгібіторів серинпротеази HCV, які набагато перевищують концентрації, випробовувані в репліконій пробі.

Висновки щодо ефективності інгібіторів серинпротеази HCV та інтерферонів, застосовуваних окремо і в комбінаціях

Активність проти HCV інгібіторів серинпротеази HCV згідно з цим винаходом та різних інтерферонів, застосовуваних окремо, охарактеризована в рядках та колонках даних окремих експериментів, представлених в Таблиці 8, де застосовано лише один антивірусний агент. В таблиці 9 представлені значення IC_{50} для кожного антивірусного агента, одержані при їх індивідуальному випробуванні. Вищезгадані результати, одержані при виконанні репліконої проби *in vitro*, показують також, що комплексна обробка репліконових клітин HCV інгібіторами серинпротеази HCV згідно з цим винаходом та різними інтерферонами дає синергічні антивірусні ефекти. Можна обгрунтовано сподіватися, що ці ефекти будуть виявлятися також *in vivo*.

Комплексна терапія з застосуванням інгібіторів серинпротеази HCV згідно з цим винаходом має кілька важливих переваг перед терапією одним лікарським засобом. Перша перевага полягає в можливості терапії меншими дозами індивідуальних засобів, ніж при застосуванні цих засобів окремо, що дозволяє очікувати зниження токсичності та побічних ефектів, пов'язаних із лікуванням. Це має особливе значення у випадку інтерферонової терапії, де побічні ефекти є тяжкими і, як показано, пропорційні дозам, що їх вводять в організм пацієнта. Вищенаведені дані свідчать, що дозу інгібітора серинпротеази HCV, наприклад, Сполуки CU, яка відповідає рівню IC_{95} , можна поєднувати з дозою α -інтерферону, яка відповідає, наприклад, рівню IC_{50} , одержуючи в результаті значно вищий терапевтичний ефект в порівнянні з тим, який досягається при застосуванні тільки інгібітора серинпротеази HCV, без негативних побічних ефектів, спричинених високими дозами α -інтерферону. Другою значною перевагою комплексної терапії є те, що, оскільки обидва лікарські засоби діють незалежно один від одного, то знижується ймовірність розвитку мутантних штамів HCV, стійких проти терапії. Розвиток резистентності є головною проблемою при боротьбі з РНК-вірусами, до яких належить HCV. Внаслідок високої швидкості мутації ці віруси можуть швидко пристосовуватися до дії зовнішніх факторів. Третьою перевагою комплексної терапії можна вважати її знижену вартість внаслідок потреби в менших кількостях лікарських засобів, необхідних для ефективного лікування.

До додаткових іміномодуляторів, які можна застосовувати в способах, розкритих у цьому описі, належать, наприклад, α -2А-інтерферон, консенсус-інтерферон, т-інтерферон, інтерферон із рибавірином (ребатрон), пегільований інтерферон і промотори експресії інтерферонових генів. Можна очікувати, що активність цих сполук проти HCV буде підвищеною в разі їх спільного застосування з інгібіторами серинпротеази HCV, наприклад, із тими, що розкрито в цьому описі. Оскільки відомо, що інтерферони є активними *in vivo* і в репліконій пробі, то можна сподіватися, що інгібітори серинпротеази HCV згідно з цим винаходом також будуть активними *in vivo* і, що більш важливо, будуть здатними виявляти синергічну активність при застосуванні у комбінації з інтерферонами, стимуляторами імунних систем інтерферонів або з іншими сполуками, які виявляють антивірусну активність проти HCV, що діють за іншими механізмами, відмінними від інгібування серинпротеази HCV.

Найкраща сучасна терапія HCV застосовує α -інтерферон і аналог нуклеозиду - рибавірин. Ця терапія є малоефективною і спричиняє значні побічні ефекти, що знижує її популярність серед пацієнтів [Chronic Hepatitis C: Current Disease Management, U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, 1999]. Крім того, у трансплантованих пацієнтів ефективність комплексної терапії не з'ясована однозначно, і на практиці вона може виявитися гіршою, ніж застосування одного інтерферону [Chronic Hepatitis C: Current Disease Management, U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, 1999].

Представлені вище результати свідчать про наявність синергічного ефекту застосування інтерферонів у комбінації з новим класом агентів, активних проти HCV, а саме, інгібіторів серинпротеази HCV згідно з цим винаходом. Автори винаходу очікують, що одержані *in vitro* результати, представлені в цьому описі, призведуть до більш ефективного лікування пацієнтів, уражених HCV, ніж це можливо на сьогодні при застосуванні одного інтерферону. Субтерапевтичні дози інтерферону здатні мобілізувати імунну систему

Цей винахід може бути втілений в інших конкретних формах без відходу від його суті або істотних ознак.

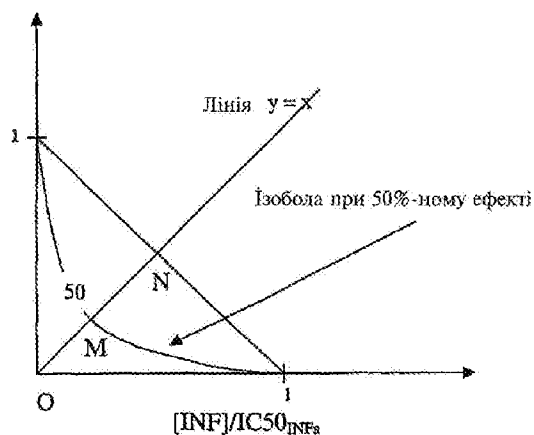
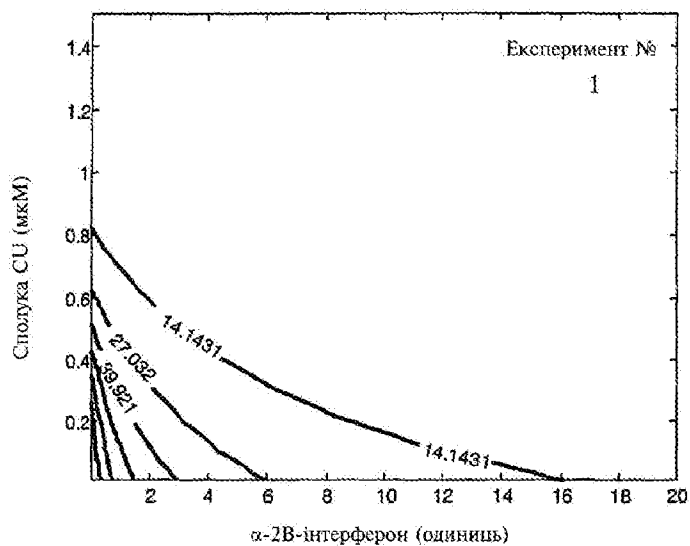
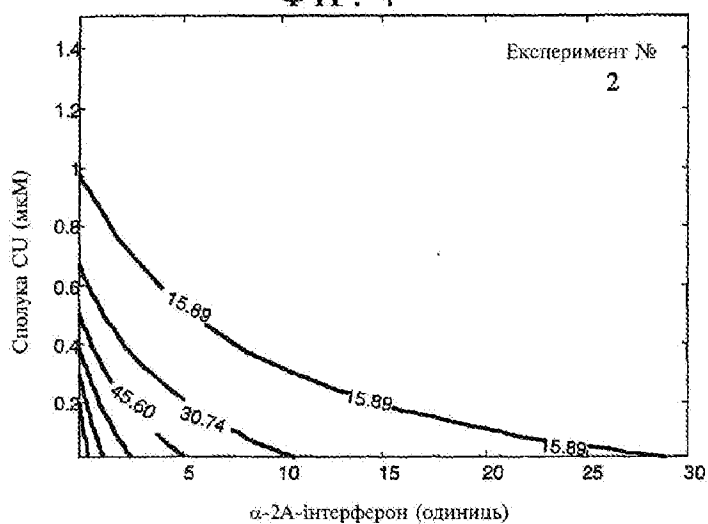
[HSPT]/IC50_{HSPT}

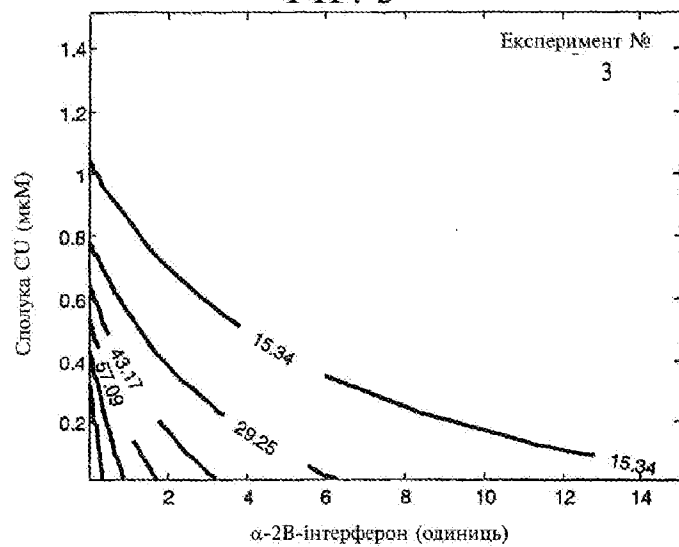
FIG. 3



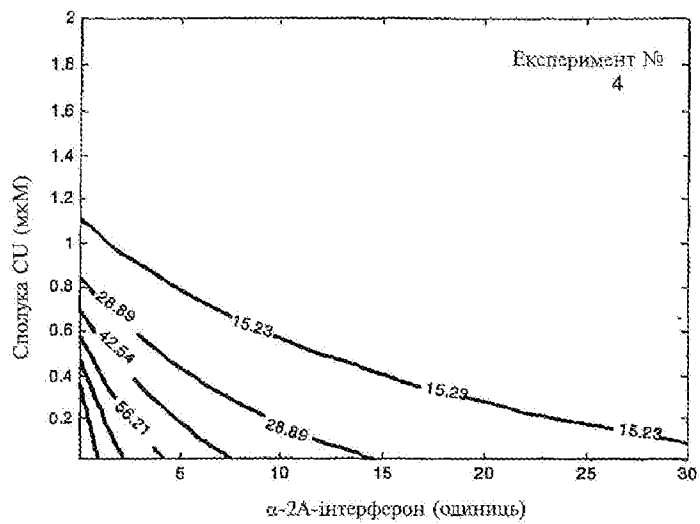
ФІГ. 4



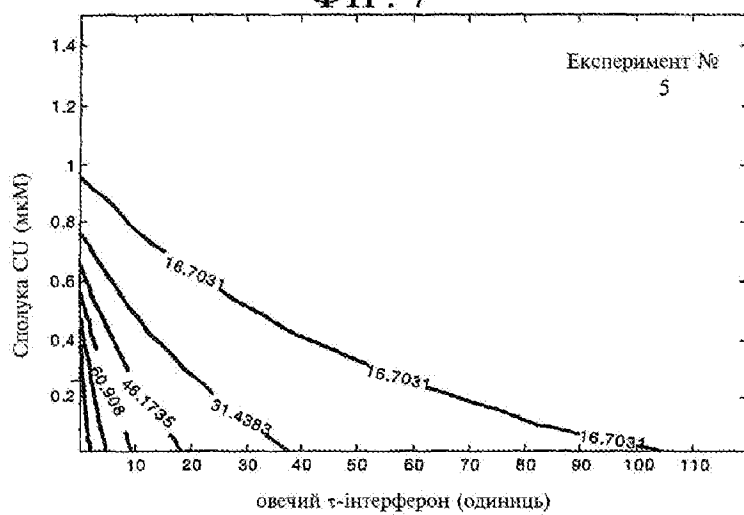
ФІГ. 5



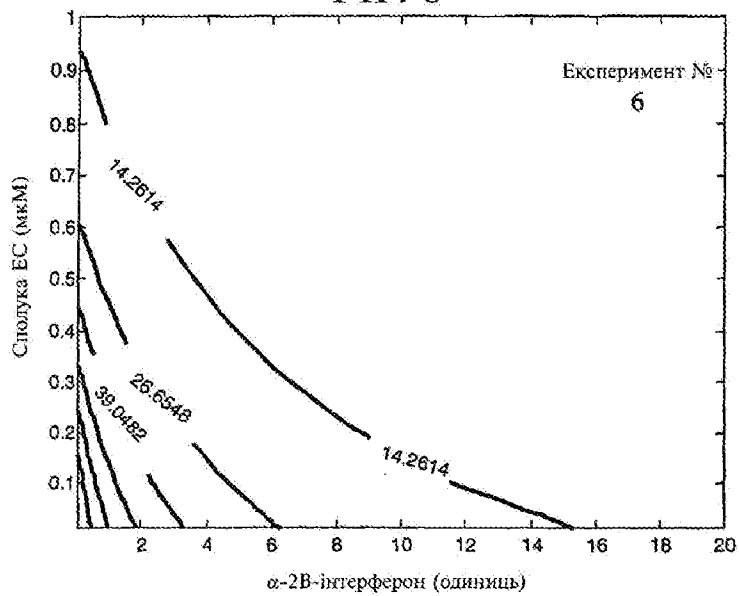
ФІГ. 6



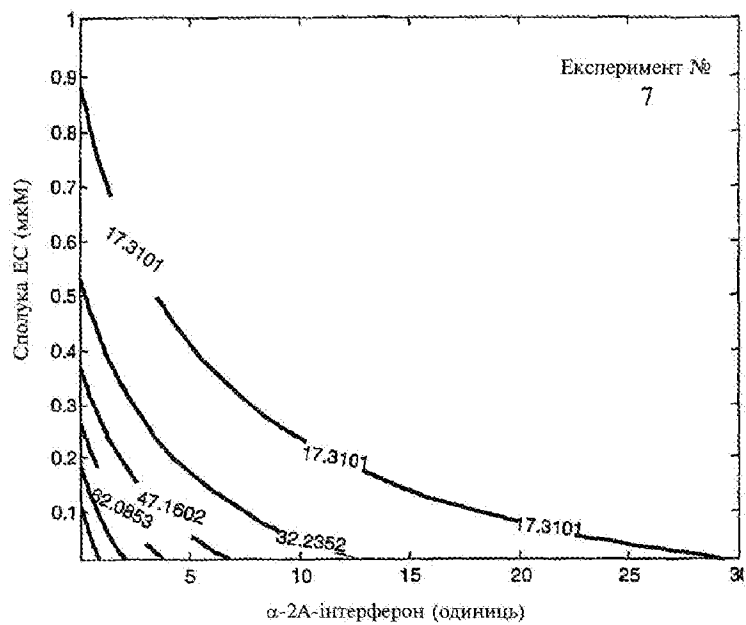
ФІГ. 7



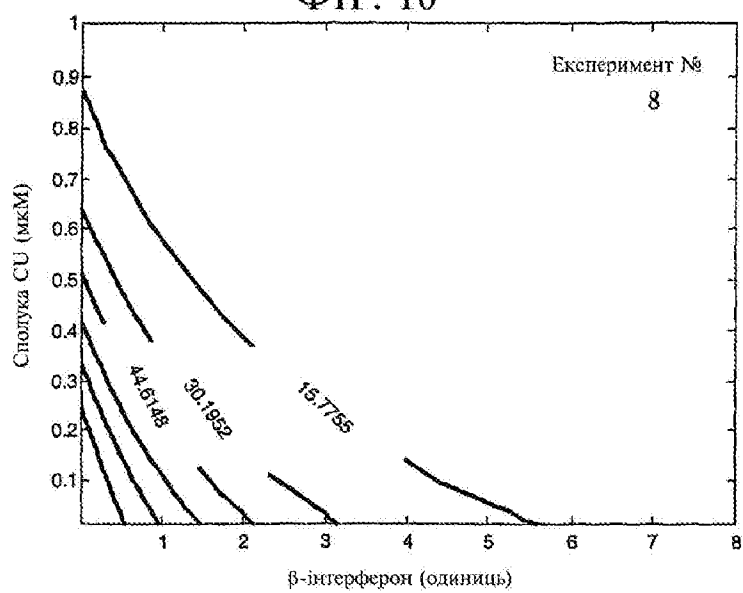
ФІГ. 8



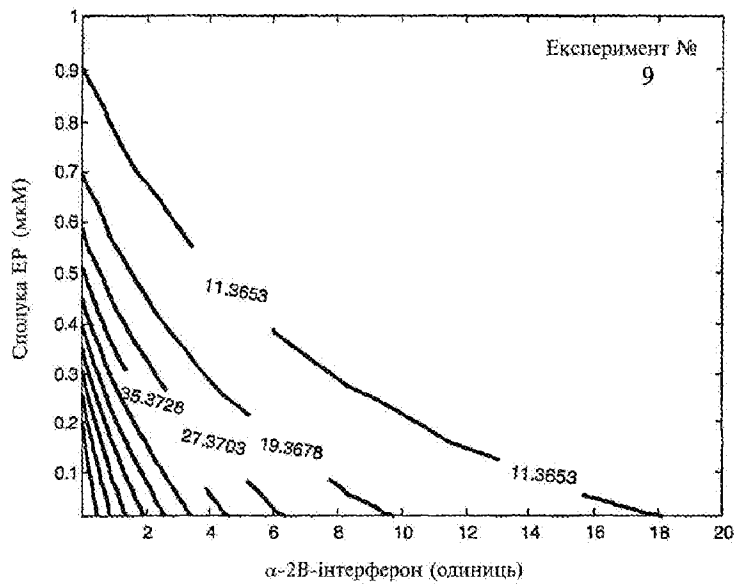
ФІГ. 9



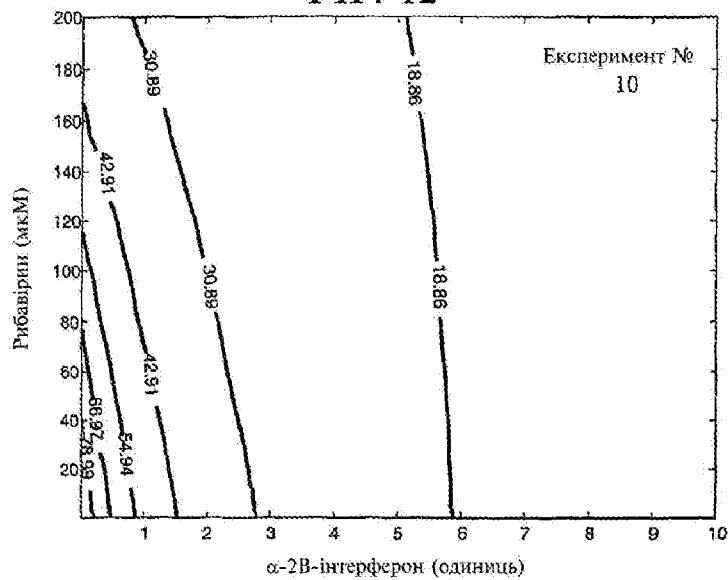
ФІГ. 10



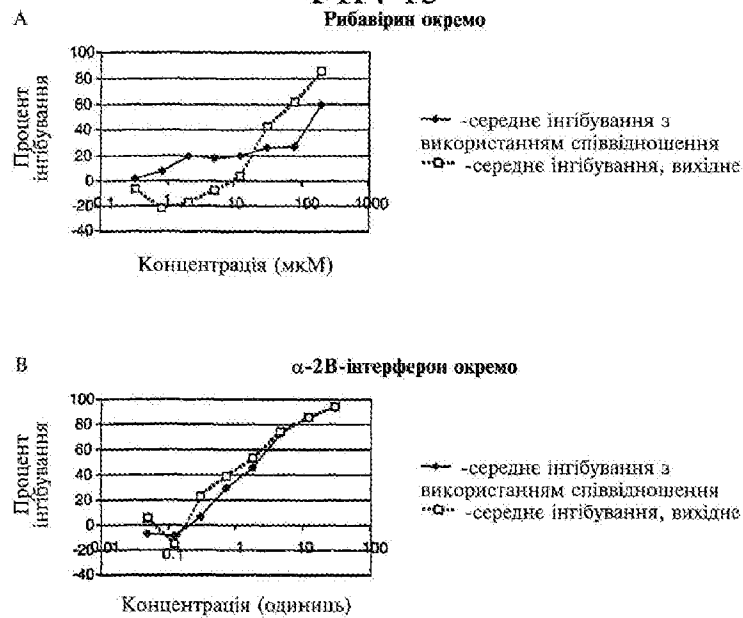
ФІГ. 11



ФІГ. 12



ФІГ. 13



ФІГ. 14