



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 84256

(13) C2

(51) МПК (2006)

A61K 31/13

A61K 31/381

A61K 31/404 (2006.01)

A61K 31/405 (2006.01)

A61K 31/4184 (2006.01)

A61K 31/422

A61K 31/427

A61K 31/428

A61K 31/437 (2006.01)

A61K 31/443 (2006.01)

A61K 31/4436 (2006.01)

A61K 31/4439 (2006.01)

A61K 31/454 (2006.01)

A61K 31/4545 (2006.01)

A61K 31/4709

A61K 31/497 (2006.01)

A61K 31/506

A61K 31/5377 (2006.01)

A61K 31/7052 (2006.01)

A61K 38/21

A61K 45/00

A61P 31/12 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

A61P 37/02 (2006.01)

A61P 43/00

C07D 209/08 (2006.01)

C07D 209/14 (2006.01)

C07D 209/20 (2006.01)

C07D 209/30 (2006.01)

C07D 209/42 (2006.01)

C07D 333/62 (2006.01)

C07D 401/04 (2006.01)

C07D 401/06 (2006.01)

C07D 401/12 (2006.01)

C07D 401/14 (2006.01)

C07D 403/04 (2006.01)

C07D 405/04 (2006.01)

C07D 405/12 (2006.01)

C07D 405/14 (2006.01)

C07D 407/14 (2006.01)

C07D 409/04 (2006.01)

C07D 409/14 (2006.01)

C07D 413/04 (2006.01)

C07D 413/14 (2006.01)

C07D 417/04 (2006.01)

C07D 417/12 (2006.01)

C07D 417/14 (2006.01)

C07D 471/04 (2006.01)

C07H 19/056 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТА-
МЕНТ ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ІНГІБІТОРИ ВІРУСНОЇ ПОЛІМЕРАЗИ

1

2

(21) 2004021313

(22) 18.07.2002

(24) 10.10.2008

(86) PCT/CA02/01127, 18.07.2002

(31) 60/307,674

(32) 25.07.2001

(33) US

(31) 60/338,061

(32) 07.12.2001

(33) US

(46) 10.10.2008, Бюл.№ 19, 2008 р.

(72) БОЛЬО П'ЕР ЛУІ, ФАЗАЛ ГУЛРЕЗ, КЮКОЛЬ
ЖОРЖ, ЖОЛІКЬОР ЕРІК, ГІЛЛАРД ДЖЕЙМС,
ПУПАР МАРК-АНДРЕ, РАНКУР ЖАН

(73) БЬОРИНГЕР ІНГЕЛЬХАЙМ (КАНАДА) ЛТД.

(56) WO 0147883 A, 05.07.2001

US 5059621 A, 22.10.1991

US 6069156 A, 30.05.2000

WO 9748697 A, 24.12.1997

JP 10067682 A, 10.03.1998

JP 10114654 A, 06.05.1998

JP 09124632 A, 13.05.1997

WO 0132653 A, 10.05.2001

US 3565912 A, 23.02.1971

JP 2001122855 A, 08.05.2001

WO 0130774 A, 03.05.2001

US 5912260 A, 15.06.1999

US 4740519 A, 26.04.1988

EP 0987250 A, 22.03.2000

WO 9928297 A, 10.06.1999

EP 0242167 A, 21.10.1987

WO 0147922 A, 05.07.2001

DATABASE CA [Online] CHEMICAL ABSTRACTS
SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; HISHMAT, O.
H. ET AL: "Synthesis of pharmacologically active
indoles" retrieved from STN Database accession no.
132:49850 XP002233311 & BOLLETTINO
CHIMICO FARMACEUTICO (1999), 138(6), 259-
266DATABASE CA [Online] CHEMICAL ABSTRACTS
SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; FUERSTNER,
ALOIS ET AL: "Titanium-induced zipper reactions"
retrieved from STN Database accession no.
123:83146 XP002233857 & ANGEWANDTE
CHEMIE, INTERNATIONAL EDITION IN ENGLISH
(1995), 34(6), 678-81DATABASE CA [Online] CHEMICAL ABSTRACTS
SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; ROTH, H. J. ET
AL: "Synthesis of indole and carbazole derivatives
by condensation of.alpha.-hydroxyketones and

(13) C2

(11) 84256

(19) UA

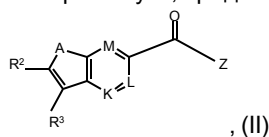
aromatic amines" retrieved from STN Database accession no. 77:19476 XP002233858 & ARCHIV DER PHARMAZIE UND BERICHTS DER DEUTSCHEN PHARMAZEUTISCHEN GESELLSCHAFT (1972), 305(3), 159-71
 DATABASE CA [Online] CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; YOUNGDALE, GILBERT A. ET AL: "Synthesis and antiinflammatory activity of 5-substituted 2,3-bis(p-methoxyphenyl)indoles" retrieved from STN Database accession no. 71:91199 XP002233859 & JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY (1969), 12, 948-9

WO 0204425 A, 17.01.2002

US 2002/065418 A1, 30.05.2002

US 6358992 B1, 19.03.2002

(57) 1. Ізомер, енантіомер, діастереомер або таутомер сполуки, представленої формулою II:



у якій:

A являє собою O, S, або NR^1 , де R^1 вибирають із групи, яка складається з H і (C_{1-6}) алкілу, необов'язково заміщеного OR^{11} , де R^{11} являє собою H або (C_{1-6}) алкіл;

R^2 вибирають з: H, галогену, R^{21} , OR^{21} , SR^{21} , COOR^{21} , $\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^{22})_2$, $\text{N}(\text{R}^{22})_2$, $\text{CON}(\text{R}^{22})_2$, $\text{NR}^{22}\text{C}(\text{O})\text{R}^{22}$ або $\text{NR}^{22}\text{C}(\text{O})\text{NR}^{22}$, у яких R^{21} і кожен R^{22} незалежно являють собою H, (C_{1-6}) алкіл, галогеналкіл, (C_{2-6}) алкеніл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{2-6}) алкініл, (C_{5-7}) циклоалкеніл, 6- або 10-членний арил або Het, причому вказані R^{21} і R^{22} необов'язково заміщені радикалом R^{20} , або обидва R^{22} з'єднані разом, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу з атомом азоту, до якого вони приєднані;

де R^{20} кожний являє собою:

1-4 замісники, вибрані з: галогену, OPO_3H , NO_2 , ціано, азидо, $\text{C}(\text{=NH})\text{NH}_2$, $\text{C}(\text{=NH})\text{NH}(\text{C}_{1-6})$ алкілу або $\text{C}(\text{=NH})\text{NHCO}(\text{C}_{1-6})$ алкілу; або

1-4 замісники, вибраних з:

а) (C_{1-6}) алкілу або галогеналкілу, (C_{3-7}) циклоалкілу, (C_{3-7}) спіроциклоалкілу, який необов'язково містить 1 або 2 гетероатоми, (C_{2-6}) алкенілу, (C_{3-6}) циклоалкенілу, (C_{2-8}) алкінілу, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкілу, кожний з яких необов'язково заміщений радикалом R^{150} ;

б) OR^{104} , де R^{104} являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

в) OCOR^{105} , де R^{105} являє собою (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

г) SR^{108} , $\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^{108})_2$ або $\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^{108})\text{C}(\text{O})\text{R}^{108}$, у яких кожен R^{108} незалежно являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, причому вказані алкіл, циклоалкіл, алкіл-циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet і гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

7) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, або обидва R^{108} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, або гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

д) $\text{NR}^{111}\text{R}^{112}$, де R^{111} являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, і R^{112} являє собою H, CN, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил, (C_{1-6}) алкілHet, COOR^{115} або $\text{SO}_2\text{R}^{115}$, у яких R^{115} являє собою (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, або обидва R^{111} і R^{112} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, причому вказані (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

е) $\text{NR}^{116}\text{COR}^{117}$, де R^{116} і R^{117} кожний являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, причому вказані (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

ж) $\text{NR}^{118}\text{CONR}^{119}\text{R}^{120}$, де R^{118} , R^{119} і R^{120} кожний являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, або R^{118} ковалентно приєднаний до радикала R^{119} і до атома азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу;

або R^{119} і R^{120} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу; вказані алкіл, циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, або гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

з) $\text{NR}^{121}\text{COCOR}^{122}$, де R^{121} і R^{122} кожен являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, 6- або 10-членний арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, причому вказані алкіл, циклоалкіл, алкіл-циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

або R^{122} являє собою OR^{123} або $\text{N}(\text{R}^{124})_2$, у яких R^{123} і кожен R^{124} незалежно являють собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, або R^{124} являє собою OH або $\text{O}(\text{C}_{1-6})$ алкіл, або обидва R^{124} ковалентно зв'язані один з одним, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл, алкіл-циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet і гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

л) $\text{CONR}^{129}\text{R}^{130}$, де R^{129} і R^{130} незалежно являють собою H , (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл-

5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу; вказані алкіл, циклоалкіл, (C₁₋₆)алкіл-(C₃₋₇)циклоалкіл, арил, Het, (C₁₋₆алкіл)арил або (C₁₋₆алкіл)Het, або гетероцикл необов'язково заміщений радикалом R¹⁵⁰;

з) $\text{NR}^{121}\text{COCOR}^{122}$, де R^{121} і R^{122} кожний являє собою Н, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, 6- або 10-членний арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het, причому вказані алкіл, циклоалкіл, алкіл-циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;
 або R^{122} означає OR^{123} або $\text{N}(\text{R}^{124})_2$, де R^{123} і кожен R^{124} незалежно являють собою Н, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het, або R^{124} означає OH або $\text{O}(\text{C}_{1-6})$ алкіл, або обидва R^{124} ковалентно зв'язані один з одним, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл, алкіл-циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het і гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;
 і) COR^{127} , де R^{127} являє собою Н, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het, причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;
 к) COOR^{128} , де R^{128} являє собою Н, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het, причому вказані (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил і (C_{1-6}) алкіл)Het необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;
 л) $\text{CONR}^{129}\text{R}^{130}$, де R^{129} і R^{130} незалежно являють собою Н, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het, або обидва R^{129} і R^{130} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл, алкіл-циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил, (C_{1-6}) алкіл)Het і гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;
 м) арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het, кожний з яких необов'язково заміщений радикалом R^{150} , де R^{150} являє собою, переважно:
 1-3 замісники, вибрані з: галогену, NO_2 , ціано або азидо; або
 1-3 замісники, вибрані з:
 а) (C_{1-6}) алкілу або галогеналкілу, (C_{3-7}) циклоалкілу, (C_{2-6}) алкенілу, (C_{2-8}) алкінілу, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкілу, кожний з яких необов'язково заміщений радикалом R^{160} ;
 б) OR^{104} , де R^{104} являє собою Н, (C_{1-6}) алкіл або (C_{3-7}) циклоалкіл, причому вказані алкіл або циклоалкіл необов'язково заміщені радикалом R^{160} ;
 г) SR^{108} , $\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^{108})_2$ або $\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^{108})\text{C}(\text{O})\text{R}^{108}$, де кожен R^{108} незалежно являє собою Н, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, або обидва R^{108} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het і гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{160} ;

д) $\text{NR}^{111}\text{R}^{112}$, де R^{111} являє собою Н, (C_{1-6}) алкіл або (C_{3-7}) циклоалкіл, і R^{112} являє собою Н, (C_{1-6}) алкіл або (C_{3-7}) циклоалкіл, COOR^{115} або $\text{SO}_2\text{R}^{115}$, де R^{115} являє собою (C_{1-6}) алкіл або (C_{3-7}) циклоалкіл, або обидва R^{111} і R^{112} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл і гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{160} ;
 е) $\text{NR}^{116}\text{COR}^{117}$, де R^{116} і R^{117} кожний являє собою Н, (C_{1-6}) алкіл або (C_{3-7}) циклоалкіл, причому вказані (C_{1-6}) алкіл і (C_{3-7}) циклоалкіл необов'язково заміщені радикалом R^{160} ;
 ж) $\text{NR}^{118}\text{CONR}^{119}\text{R}^{120}$, де R^{118} , R^{119} і R^{120} кожний являє собою Н, (C_{1-6}) алкіл або (C_{3-7}) циклоалкіл, або R^{118} ковалентно зв'язаний з радикалом R^{119} і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, або R^{119} і R^{120} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл і гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{160} ;
 з) $\text{NR}^{121}\text{COCOR}^{122}$, де R^{121} являє собою Н, (C_{1-6}) алкіл або (C_{3-7}) циклоалкіл, причому вказані алкіл і циклоалкіл необов'язково заміщені радикалом R^{160} , або R^{122} означає OR^{123} або $\text{N}(\text{R}^{124})_2$, де R^{123} і кожен R^{124} незалежно являють собою Н, (C_{1-6}) алкіл або (C_{3-7}) циклоалкіл, або обидва R^{124} ковалентно зв'язані один з одним, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл і гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{160} ;
 і) COR^{127} , де R^{127} являє собою Н, (C_{1-6}) алкіл або (C_{3-7}) циклоалкіл, причому вказані алкіл і циклоалкіл необов'язково заміщені радикалом R^{160} ;
 к) COOR^{128} , де R^{128} являє собою Н, (C_{1-6}) алкіл або (C_{3-7}) циклоалкіл, причому вказані (C_{1-6}) алкіл і (C_{3-7}) циклоалкіл необов'язково заміщені радикалом R^{160} ;
 л) $\text{CONR}^{129}\text{R}^{130}$, де R^{129} і R^{130} незалежно являють собою Н, (C_{1-6}) алкіл або (C_{3-7}) циклоалкіл, або обидва R^{129} і R^{130} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл і гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{160} ;
 де R^{160} визначають як 1 або 2 замісники, вибрані з галогену, CN, C_{1-6} алкілу, галогеналкілу, COOR^{161} , OR^{161} , $\text{N}(\text{R}^{162})_2$, $\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^{162})_2$, $\text{NR}^{162}\text{COR}^{162}$ або $\text{CON}(\text{R}^{162})_2$, де R^{161} і кожен R^{162} незалежно являють собою Н, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл; або обидва R^{162} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу.
 11. Сполука за п.10, у якій R^2 вибирають з арилу або Het, кожний з яких необов'язково монозаміщений або дизаміщений замісниками, вибраними з групи, яка складається з галогену, галогеналкілу, N_3 , або

а) (C₁₋₆)алкілу, необов'язково заміщеного групою OH або O(C₁₋₆)алкіл;

б) (C₁₋₆)алкокси;

д) NR¹¹¹R¹¹², де обидва R¹¹¹ і R¹¹² незалежно являють собою H, (C₁₋₆)алкіл, (C₃₋₇)циклоалкіл, або R¹¹² являє собою 6- або 10-членний арил, Het, (C₁₋₆)алкіларил або (C₁₋₆)алкіл-Het; або обидва R¹¹¹ і R¹¹² ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому азотовмісного гетероциклу, причому кожний із вказаних алкілу, циклоалкілу, арилу, Het, алкіларилу або алкіл-Het необов'язково заміщений галогеном або:

OR¹⁶¹ або N(R¹⁶²)₂, де R¹⁶¹ і кожен R¹⁶² незалежно являє собою H, (C₁₋₆)алкіл, або обидва R¹⁶² ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому азотовмісного гетероциклу;

е) NHCOR¹¹⁷, де R¹¹⁷ являє собою (C₁₋₆)алкіл;

і) CO-арил; і

л) CONH₂, CONH(C₁₋₆алкіл), CON(C₁₋₆алкіл)₂, CONH-арил або CONHC₁₋₆алкіларил.

12. Сполука за п.11, де R² являє собою арил або Het, кожний з яких необов'язково монозаміщений або дизаміщений замісниками, вибраними з групи, яка складається з галогену, галогеналкілу, або

а) (C₁₋₆)алкілу, необов'язково заміщеного групою OH або O(C₁₋₆)алкіл;

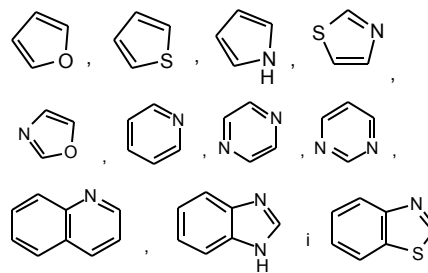
б) (C₁₋₆)алкокси; і

д) NR¹¹¹R¹¹², де обидва R¹¹¹ і R¹¹² незалежно являють собою H, (C₁₋₆)алкіл, (C₃₋₇)циклоалкіл, або

R¹¹² являє собою 6- або 10-членний арил, Het, (C₁₋₆)алкіларил або (C₁₋₆)алкіл-Het; або обидва R¹¹¹ і R¹¹² ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому азотовмісного гетероциклу, причому кожний із вказаних алкілу, циклоалкілу, арилу, Het, алкіларилу або алкіл-Het необов'язково заміщений галогеном або:

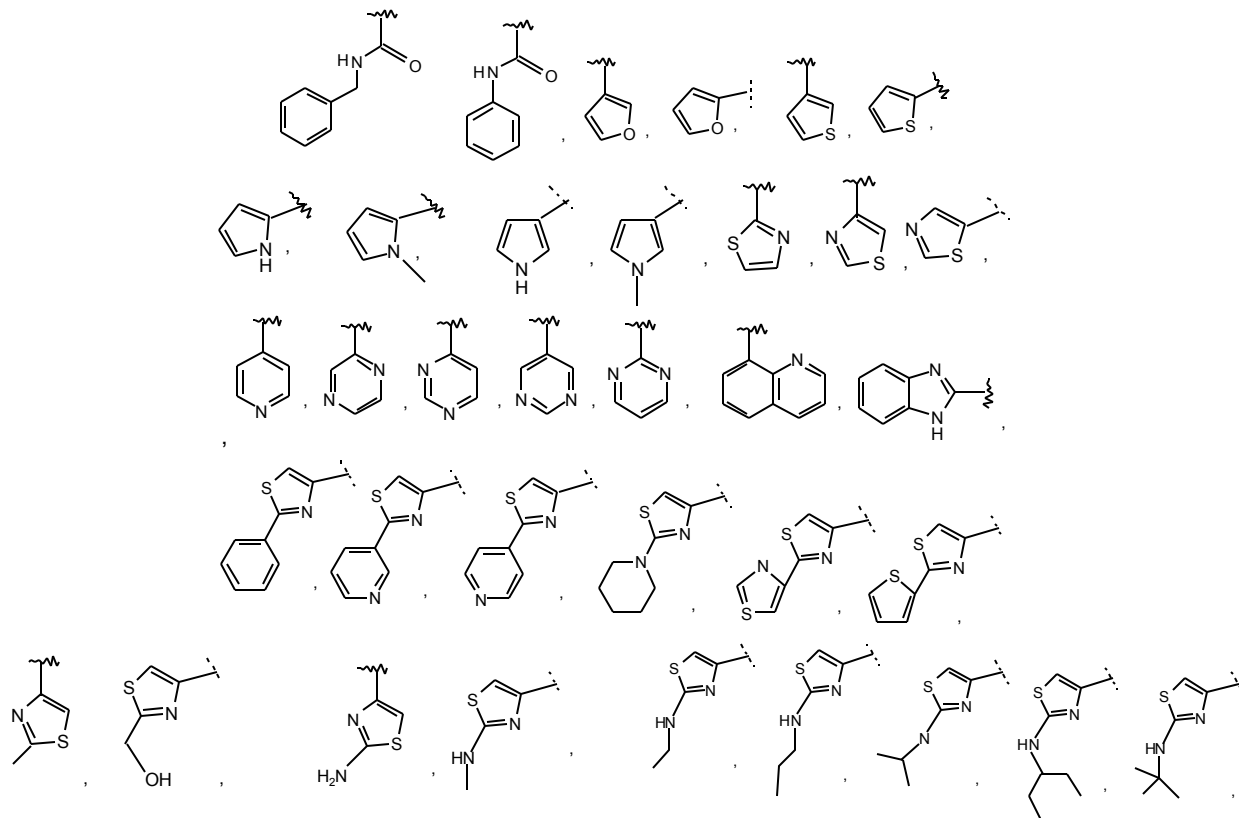
OR¹⁶¹ або N(R¹⁶²)₂, де R¹⁶¹ і кожен R¹⁶² незалежно являють собою H, (C₁₋₆)алкіл, або обидва R¹⁶² ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому азотовмісного гетероциклу.

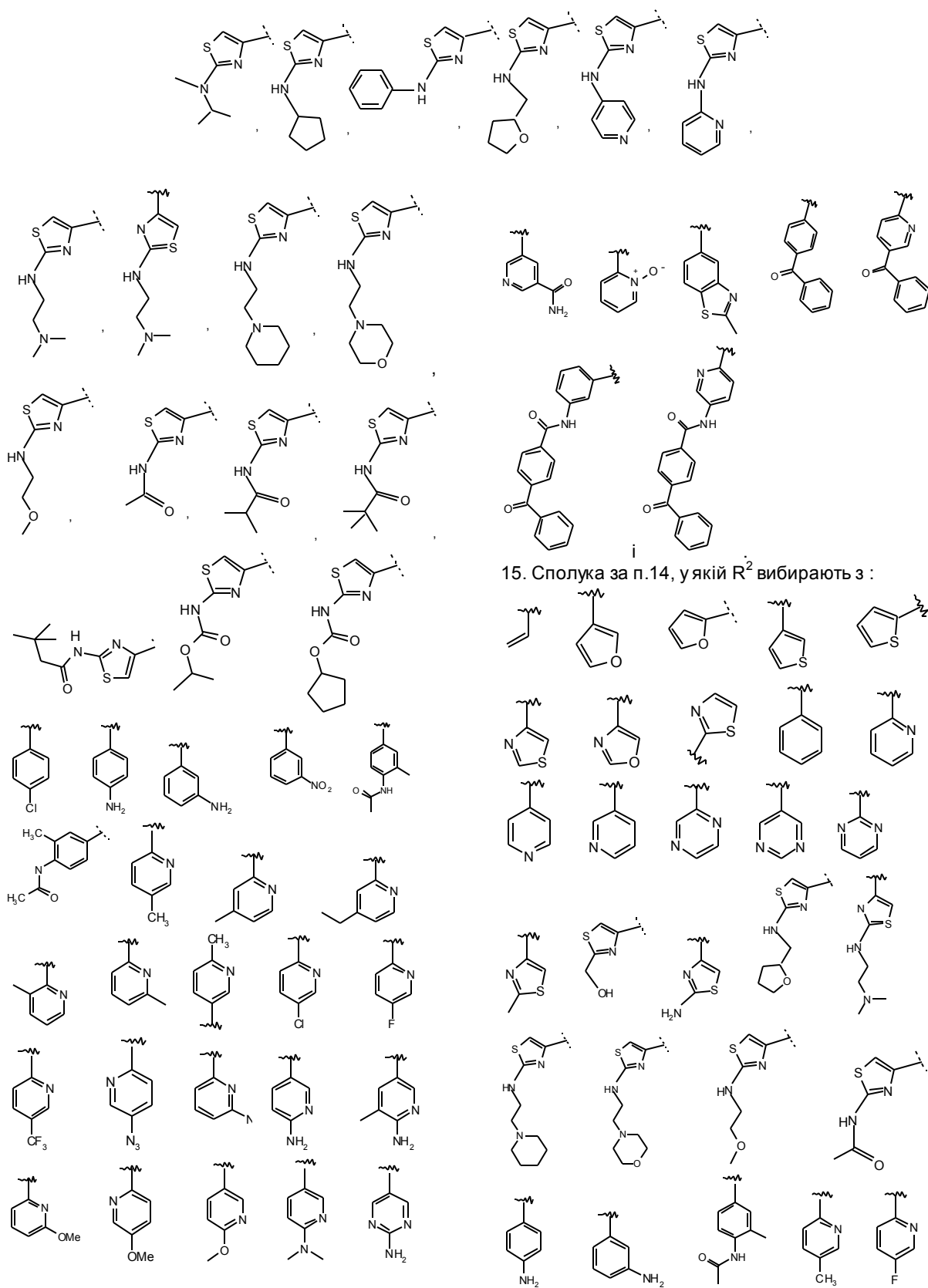
13. Сполука за п.12, де R² означає феніл або гетероцикл, вибраний з:

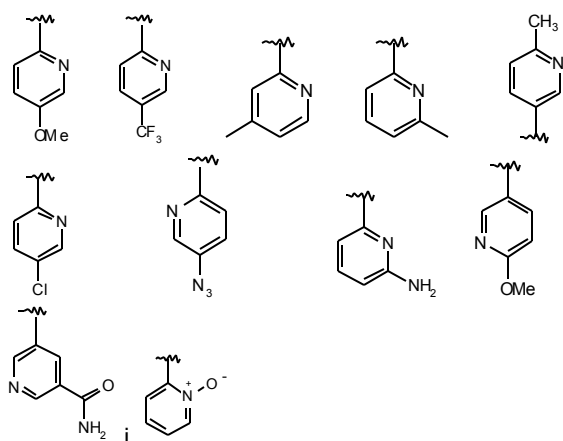


кожний з яких необов'язково заміщений, як вказано в п.12.

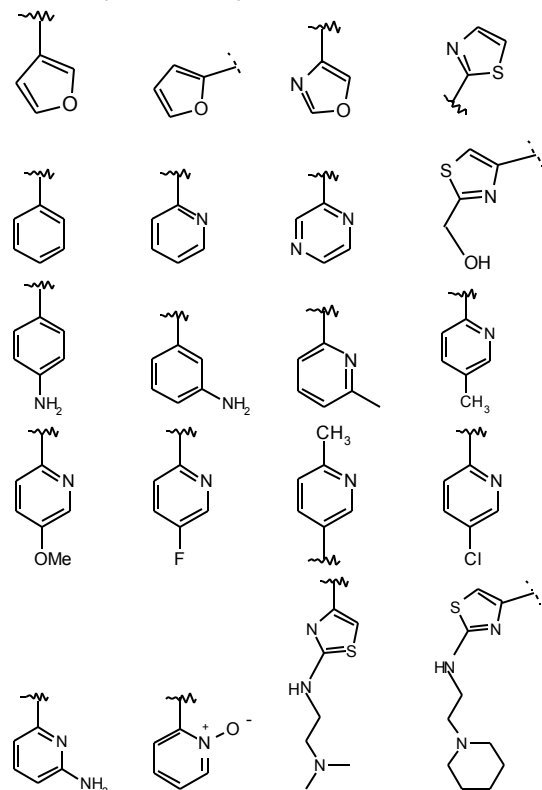
14. Сполука за п.1, у якій R² вибирають з H, Br, CH=CH₂,







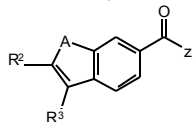
16. Сполука за п.15, у якій R^2 вибирають з:



17. Сполука за п.1, у якій R^3 означає цикlopентил або циклогексил.

18. Сполука за п.1, у якій Z означає OH.

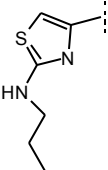
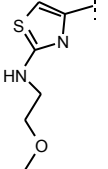
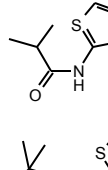
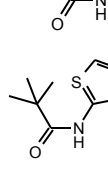
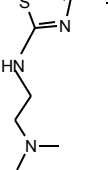
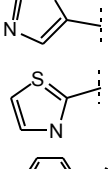
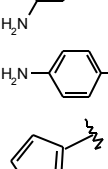
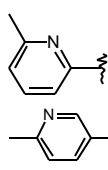
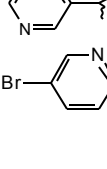

19. Сполука за п.1, вибрана із сполук формули:

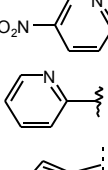
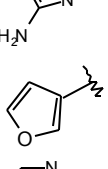
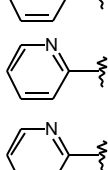
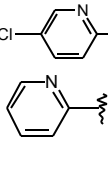
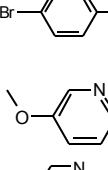
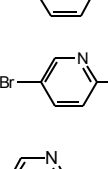
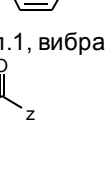
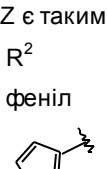
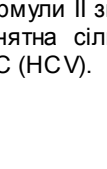




у якій A, R^2 , R^3 і Z є такими, як визначено нижче:

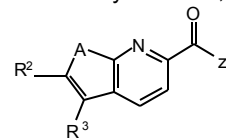
Спол. №	A	R^2	R^3	Z
101	N-Me	феніл	циклогексил	ОН
102	NH		циклогексил	ОН

103	NH		циклогексил	ОН
104	NH		циклогексил	ОН
105	NH	Br	циклогексил	ОН
106	N-Me		циклогексил	ОН
107	N-Me		циклогексил	ОН
108	N-Me		циклогексил	ОН
109	N-Me		циклогексил	ОН
110	NH		циклопентил	ОН
111	N-Me		циклопентил	ОН
112	N-Me		циклогексил	ОН
113	N-Me		циклопентил	ОН
114			циклогексил	OMe
115	N-Me		циклопентил	ОН
116			циклогексил	ОН
117	N-Me		циклопентил	ОН
118	N-Me		циклопентил	ОН
119	N-Me		циклопентил	ОН
120	N-Me		циклопентил	ОН
121	N-Me		циклопентил	ОН


122	N-Me		циклопен- тил	ОН
123	N-Me		циклопен- тил	ОН
124	N-Me		циклопен- тил	ОН
125	N-Me		циклопен- тил	ОН
126	N-Me		циклопен- тил	ОН
127	N-Me		циклопен- тил	ОН
128	N-Me		циклопен- тил	ОН
129	N-Me		циклопен- тил	ОН
130	N-Me		циклопен- тил	ОН
131	N-Me		циклопен- тил	ОН
132	N-Me		циклопен- тил	ОН
133	N-Me		циклопен- тил	ОН
134	N-Me		циклопен- тил	ОН
135	N-Me		циклопен- тил	ОН
136	N-Me		циклопен- тил	ОН

137	N-Me		циклопен- тил	ОН
138	S		циклопен- тил	ОН
139	N-Me		циклогек- сил	ОН
140	S		циклопен- тил	ОН
141	O		циклопен- тил	ОН
142	NH		циклогек- сил	ОН
143	N		циклогек- сил	ОН
144	N-Me		циклопен- тил	ОН
145	NH		циклопен- тил	ОН
146	N		циклогек- сил	ОН
147	N-Me		циклопен- тил	ОН
148	N-Me		циклопен- тил	ОН
149	N		циклогек- сил	ОН
150	N-Me			ОН

20. Сполука за п.1, вибрана із сполук формули:



у якій A, R², R³ і Z є такими, як визначено нижче:

Спол. №	A	R ²	R ³	Z
201	N-Me	феніл	циклогексил	ОН
202	N-Me		циклогексил	ОН

21. Сполука формули II згідно із п.1, або її фармацевтично прийнятна сіль, як інгібітор реплікації вірусу гепатиту С (HCV).

Даний винахід стосується інгібіторів РНК-залежних РНК-полімераз, зокрема, інгібіторів вірусних полімераз, які входять до родини *Flaviviridae*, більш конкретно, інгібіторів полімерази вірусу гепатиту С.

За підрахунками, щорічно в США відбувається приблизно 30000 випадків інфікування вірусом гепатиту С (HCV - від англ. hepatitis C virus) [Kolykhalov, A. A.; Mihalik, K.; Feinstone, S. M.; Rice, C. M.; 2000; *J. Virol.*, v.74, p.2046-2051]. HCV важко розпізнається системою імунологічного захисту організму-хазяїна; і до 85% людей, інфікованих вірусом гепатиту С, стають хронічно HCV-інфікованими. Багато з таких стійких хронічних інфекційних захворювань приводять до хронічного захворювання печінки, включаючи цироз і гепатоцелюлярну карциному [Hoofthals, J. H.; 1997; *Hepatology*, v.26: 15S-20S]. За підрахунками, в усьому світі є 170 мільйонів носіїв вірусу гепатиту С, і останні стадії захворювання печінки, зв'язаного з впливом вірусу гепатиту С, на даний час є основною причиною трансплантації печінки. Тільки в США гепатит С відповідає за від 8000 до 10000 смертей щорічно. Без ефективного втручання в наступні 10-20 років це число, як думають, потроїться. Не існує вакцини для запобігання HCV-інфікування. Тривале лікування хронічних інфікованих хворих інтерфероном або інтерфероном і рибавирином на даний час є єдиною апробованою терапією, але при її використанні тривалий ефект досягається менше, ніж у 50% випадків [Lindsay, K. L.; 1997; *Hepatology*, v.26: 71S-77S, і Reichard, O.; Schvarcz, R.; Weiland, O.; 1997, *Hepatology*, v.26: 108S-111S].

HCV належить до родини *Flaviviridae*, під роду *hepadnavirus*, яке включає три види невеликих оболонкових вірусів із РНК позитивної полярності [Rice, C. M.; 1996; "Flaviviridae: the viruses and their replication"; pp.931-960 in *Fields Virology*; Fields, B. N.; Knipe, D. M.; Howley, P. M. (eds.); Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia Pa.]. Генوم HCV розміром 9,6 т.п.н. складається з відкритої рамки читання (ORF), обмеженої 5'- і 3'- нетрансльованими ділянками (NTRs). Довжина такої ділянки 5'-NTR, яка належить HCV, становить 341 нуклеотид, ця ділянка виконує функцію внутрішнього сайту входу рибосоми для кеп-незалежної ініціації трансляції [Lemon, S. H.; Honda, M.; 1997; *Semin. Virol.*, v.8: p.274-288]. HCV-поліпротеїн розщеплюється ко- і посттрансляційно на принаймні 10 індивідуальних поліпептидів [Reed, K. E.; Rice, C. M.; 1999; *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, v.242: p.55-84]. Структурні білки утворюються із сигнальної пептидази в N-кінцевій ділянці поліпротеїну. Дві протеази вірусу є медіаторами розщеплення в прямому напрямку (тобто 5'-3'напрямку) з одержанням при цьому неструктурних білків (NS-білків), які функціонують як компоненти РНК-реплікази HCV. NS2-3 протеаза охоплює C-кінцеву половину NS2 і N-кінцеву третину NS3 і каталізує цис-розщеплення NS2/3 сайту. Ця ж частина NS3 також кодує ката-

літичний домен NS3-4A серинової протеази, що розщеплюється на чотириох ділянках, розташованих у 5'-3'напрямку. C-кінцеві дві третини NS3 дуже добре зберігаються в HCV ізолятах, виявляючи активність у відношенні РНК-зв'язування, РНК-стимульованої NTP-ази і розкручування молекули РНК. Хоча NS4B- і NS5A-фосфопроєїн, імовірно, є компонентами реплікази, їх специфічна роль невідома. Продукт розщеплення білка з боку C-кінця, NS5B, являє собою фрагмент подовження HCV-реплікази, що має РНК-залежну РНК-полімеразну (RdRp) активність [Behrens, S. E.; Tomei, L.; DeFrancesco, R.; 1996; *EMBO J.*, v.15: 12-22; а також Lohmann, V.; Komer, F.; Herian, U.; Bartenschlager, R.; 1997; *J. Virol.*, v.71: 8416-8428]. Недавно було показано на моделі шимпанзе, що мутації, які усувають NS5B активність, усувають інфективність РНК [Kolykhalov, A. A.; Mihalik, K.; Feinstone, S. M.; Rice, C. M.; 2000; *J. Virol.*, v.74, pp.2046-2051].

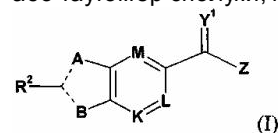
Розробка нових і специфічних лікарських засобів проти вірусу гепатиту С має першорядне значення, специфічні функції вірусу, істотні для реплікації, являють собою найбільш привабливі об'єкти для розробки лікарських засобів. Відсутність РНК-залежних РНК-полімераз у ссавців, і факт, що цей фермент, очевидно, є істотним для реплікації вірусу, дозволяє припустити, що NS5B-полімераза являє собою ідеальну мішень для лікарських засобів проти вірусу гепатиту С.

[У заявці WO 00/06529] повідомляється про інгібітори NS5B, які являють собою α,γ -дикетокислоти.

[У заявках WO 00/13708, WO 00/10573, WO 00/18231 і WO 01/47883] повідомляється про інгібітори NS5B, запропоновані для лікування HCV.

Таким чином, метою даного винаходу є одержання нового ряду сполук, які мають підвищену інгібуючу активність у відношенні HCV-полімерази.

Відповідно до першого аспекту даного винаходу пропонується ізомер, енантіомер, діастереомер або таутомер сполуки, представленої формулою I:



у якій:

A являє собою O, S, NR¹ або CR¹, де R¹ вибирають із групи, яка складається з H, (C₁₋₆)алкілу, необов'язково заміщеного:

- галогеном, OR¹¹, SR¹¹ або N(R¹²)₂, де R¹¹ і кожен R¹² незалежно являє собою H, (C₁₋₆)алкіл, (C₃₋₇)циклоалкіл, (C₁₋₆)алкіл-(C₃₋₇)циклоалкіл, (C₁₋₆)алкіл-арил або (C₁₋₆)алкіл-Het, причому вказані аріл або Het необов'язково заміщені радикалом R¹⁰, або

обидва R¹² ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу,

----- означає простий або подвійний зв'язок;
 R^2 вибирають з: H, галогену, R^{21} , OR^{21} , SR^{21} , $COOR^{21}$, $SO_2N(R^{22})_2$, $N(R^{22})_2$, $CON(R^{22})_2$, $NR^{22}C(O)R^{22}$ або $NR^{22}C(O)NR^{22}$, у яких R^{21} і кожен R^{22} незалежно являють собою H, (C_{1-6}) алкіл, галогеналкіл, (C_{2-6}) алкеніл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{2-6}) алкініл, (C_{5-7}) циклоалкеніл, 6- або 10-членний арил або Het, причому вказані R^{21} і R^{22} необов'язково заміщені радикалом R^{20} , або обидва R^{22} з'єднані разом з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу з атомом азоту, до якого вони приєднані;

де R^{10} і R^{20} кожний являє собою:

- 1-4 замісники, вибраних з: галогену, OPO_3H , NO_2 , ціано, азидо, $C(=NH)NH_2$, $C(=NH)NH(C_{1-6})$ алкілу або $C(=NH)NHCO(C_{1-6})$ алкілу; або

- 1-4 замісники, вибраних з:

а) (C_{1-6}) алкілу або галогеналкілу, (C_{3-7}) циклоалкілу, C_{3-7} спіроциклоалкілу, який необов'язково містить 1 або 2 гетероатоми, (C_{2-6}) алкенілу, (C_{3-6}) циклоалкенілу, (C_{2-8}) алкінілу, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкілу, кожний з яких необов'язково заміщений радикалом R^{150} ;

б) OR^{104} , де R^{104} являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

в) $OCOR^{105}$, де R^{105} являє собою (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

г) SR^{108} , $SO_2N(R^{108})_2$ або $SO_2N(R^{108})C(O)R^{108}$, у яких кожен R^{108} незалежно являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, або обидва R^{108} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, або гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

д) $NR^{111}R^{112}$, де R^{111} являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, і R^{112} являє собою H, CN, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил, (C_{1-6}) алкілHet, $COOR^{115}$ або SO_2R^{115} , у яких R^{115} являє собою (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, або обидва R^{111} і R^{112} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, або гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

е) $NR^{116}COR^{117}$, де R^{116} і R^{117} кожний являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, причому вказані (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

ж) $NR^{118}CONR^{119}R^{120}$, де R^{118} , R^{119} і R^{120} кожний являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, або R^{118} ковалентно приєднаний до радикала R^{119} і до атома азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, або R^{119} і R^{120} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу;

з) $NR^{121}COCOR^{122}$, де R^{121} і R^{122} кожен являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, 6- або 10-членний арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, причому вказані алкіл, циклоалкіл, алкіл-циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

або R^{122} являє собою OR^{123} або $N(R^{124})_2$, у яких R^{123} і кожен R^{124} незалежно являють собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, або R^{124} представляє собою OH або $O(C_{1-6})$ алкіл, або обидва R^{124} ковалентно зв'язані один з одним з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл, алкіл-циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet і гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

и) COR^{127} , де R^{127} являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

к) $COOR^{128}$, де R^{128} являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, причому вказані (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил і (C_{1-6}) алкілHet необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

л) $CONR^{129}R^{130}$, де R^{129} і R^{130} незалежно являють собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, або обидва R^{129} і R^{130} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл, алкіл-циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил, (C_{1-6}) алкілHet і гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

м) арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, кожний з яких необов'язково заміщений радикалом R^{150} ;

де R^{150} визначають як:

- 1-3 замісники, вибраних з галогену, OPO_3H , NO_2 , ціано, азидо, C(=NH)NH_2 , $\text{C(=NH)NH(C}_{1-6}\text{)алкілу}$ або $\text{C(=NH)NHCO(C}_{1-6}\text{)алкілу}$; або

- 1-3 замісники, вибраних з:

а) (C_{1-6}) алкілу або галогеналкілу, (C_{3-7}) циклоалкілу, C_{3-7} спіроциклоалкілу, який необов'язково містить 1 або 2 гетероатоми, (C_{2-6}) алкенілу, (C_{2-8}) алкінілу, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкілу, кожний з яких необов'язково заміщений радикалом R^{160} .

б) OR^{104} , де R^{104} являє собою H , (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het , причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het необов'язково заміщені радикалом R^{160} .

в) OCOR^{105} , де R^{105} являє собою (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het , причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het необов'язково заміщені радикалом R^{160} .

г) SR^{108} , $\text{SO}_2\text{N(R}^{108})_2$ або $\text{SO}_2\text{N(R}^{108})\text{C(O)R}^{108}$, у яких кожен R^{108} незалежно являє собою H , (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het або обидва R^{108} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het або гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{160} .

д) $\text{NR}^{111}\text{R}^{112}$, де R^{111} являє собою H , (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het , і R^{112} являє собою H , CN , (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил, (C_{1-6}) алкіл) Het , COOR^{115} або $\text{SO}_2\text{R}^{115}$, у яких R^{115} являє собою (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het , або обидва R^{111} і R^{112} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het , або гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{160} .

е) $\text{NR}^{116}\text{COR}^{117}$, де R^{116} і R^{117} кожний являє собою H , (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het , причому вказані (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het необов'язково заміщені радикалом R^{160} .

ж) $\text{NR}^{118}\text{CONR}^{119}\text{R}^{120}$, де R^{118} , R^{119} і R^{120} кожний являє собою H , (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het , або R^{118} ковалентно зв'язаний з R^{119} і з атомом азоту, до якого вони приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, або R^{119} і R^{120} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при

цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het або гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{160} .

з) $\text{NR}^{121}\text{COCOR}^{122}$, де R^{121} і R^{122} кожний представляє собою H , (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, 6- або 10-членний арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het , причому вказані алкіл, циклоалкіл, алкіл-циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het необов'язково заміщені радикалом R^{160} , або R^{122} означає OR^{123} або $\text{N(R}^{124})_2$, у яких R^{123} і кожен R^{124} незалежно являє собою H , (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het , або R^{124} означає OH або $\text{O(C}_{1-6}\text{)алкіл}$, або обидва R^{124} ковалентно зв'язані один з одним з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл, алкіл-циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het і гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{160} .

і) COR^{127} , де R^{127} являє собою H , (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het , причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het необов'язково заміщені радикалом R^{160} .

к) тетразолу, COOR^{128} , де R^{128} являє собою H , (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het , причому вказані (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил і (C_{1-6}) алкіл) Het необов'язково заміщені радикалом R^{160} .

л) $\text{CONR}^{129}\text{R}^{130}$, де R^{129} і R^{130} незалежно являють собою H , (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл) Het , або обидва R^{129} і R^{130} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл, алкіл-циклоалкіл, арил, Het , (C_{1-6}) алкіл)арил, (C_{1-6}) алкіл) Het і гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{160} .

де R^{160} визначають як 1 або 2 замісники, які вибирають з тетразолу, галогену, CN , C_{1-6} алкілу, галогеналкілу, COOR^{161} , SO_3H , SR^{161} , $\text{SO}_2\text{R}^{161}$, OR^{161} , $\text{N(R}^{162})_2$, $\text{SO}_2\text{N(R}^{162})_2$, $\text{NR}^{162}\text{COR}^{162}$ або $\text{CON(R}^{162})_2$, де R^{161} і кожен R^{162} незалежно являють собою H , (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл; або обидва R^1 ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу.

B означає NR^3 або CR^3 , за умови, що один з A або B являє собою або CR^1 , або CR^3 .

де R^3 вибирають з (C_{1-6}) алкілу, галогеналкілу, (C_{3-7}) циклоалкілу, (C_{5-7}) циклоалкенілу, (C_6-10) біциклоалкілу, (C_6-10) біциклоалкенілу, 6- або 10-членного арилу, Het , (C_{1-6}) алкіл-арилу або (C_{1-6}) алкіл- Het , вказані алкіл, циклоалкіл, біциклоалкіл, арил, Het , алкіл-арил і алкіл- Het необов'язково заміщені 1-4 замісниками, вибраними з галогену або

а) (C₁₋₆)алкілу, необов'язково заміщеного радикалом:

- OR³¹ або SR³¹, у якому R³¹ являє собою H, (C₁₋₆)алкіл, (C₃₋₇)циклоалкіл, (C₁₋₆)алкіл-(C₃₋₇)циклоалкіл, арил, Het, (C₁₋₆)алкіл-арил або (C₁₋₆)алкіл-Het; або

- N(R³²)₂, де кожен R³² незалежно являє собою H, (C₁₋₆)алкіл, (C₃₋₇)циклоалкіл, (C₁₋₆)алкіл-(C₃₋₇)циклоалкіл, арил, Het, (C₁₋₆)алкіл-арил або (C₁₋₆)алкіл-Het; або обидва R³² ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу;

б) OR³³, де R³³ являє собою H, (C₁₋₆)алкіл, (C₃₋₇)циклоалкіл або (C₁₋₆)алкіл-(C₃₋₇)циклоалкіл, арил, Het, (C₁₋₆)алкіл-арил або (C₁₋₆)алкіл-Het;

в) SR³⁴, де R³⁴ являє собою H, (C₁₋₆)алкіл, (C₃₋₇)циклоалкіл, або (C₁₋₆)алкіл-(C₃₋₇)циклоалкіл, арил, Het, (C₁₋₆)алкіл-арил або (C₁₋₆)алкіл-Het і

г) N(R³⁵)₂, де кожен R³⁵ незалежно являє собою H, (C₁₋₆)алкіл, (C₃₋₇)циклоалкіл, (C₁₋₆)алкіл-(C₃₋₇)циклоалкіл, арил, Het, (C₁₋₆)алкіл-арил або (C₁₋₆)алкіл-Het; або обидва R³⁵ ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу;

K означає N або CR⁴, де R⁴ являє собою H, галоген, (C₁₋₆)алкіл, галогеналкіл, (C₃₋₇)циклоалкіл або (C₁₋₆)алкіл-(C₃₋₇)циклоалкіл; або R⁴ являє собою OR⁴¹ або SR⁴¹, COR⁴¹ або NR⁴¹COR⁴¹, де кожен R⁴¹ незалежно являє собою H, (C₁₋₆)алкіл, (C₃₋₇)циклоалкіл або (C₁₋₆)алкіл-(C₃₋₇)циклоалкіл;

або R⁴ являє собою NR⁴²R⁴³, де R⁴² і R⁴³ кожен незалежно являють собою H, (C₁₋₆)алкіл, (C₃₋₇)циклоалкіл, (C₁₋₆)алкіл-(C₃₋₇)циклоалкіл, або обидва R⁴² і

R⁴³ ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу;

L означає N або CR⁵, де R⁵ має ті ж самі значення, як і R⁴, визначений вище;

M означає N або CR⁷, де R⁷ має ті ж самі значення, як і R⁴, визначений вище;

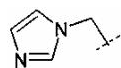
Y¹ означає O або S;

Z означає OR⁶, де R⁶ являє собою H, (C₁₋₆)алкіл, необов'язково заміщений галогеном, гідрокси, карбокси, аміно, C₁₋₆алкокси, C₁₋₆алкоксикарбонілом і C₁₋₆алкіламіно; або R⁶ являє собою C₁₋₆алкіларил, необов'язково заміщений галогеном, ціано, нітро, C₁₋₆алкілом, C₁₋₆галогеналкілом, C₁₋₆алканолілом, -(CH₂)₁₋₆-COOR⁷, -(CH₂)₁₋₆-CONR⁷R⁸, -(CH₂)₁₋₆-NR⁷R⁸, -(CH₂)₁₋₆-NR⁷COR⁸, -(CH₂)₁₋₆-NHSO₂R⁷, -(CH₂)₁₋₆-OR⁷, -(CH₂)₁₋₆-SR⁷, -(CH₂)₁₋₆-SO₂R⁷ і -(CH₂)₁₋₆-SO₂NR⁷R⁸, у яких кожен R⁷ і кожен R⁸ являє собою H або C₁₋₆алкіл,

або Z являє собою NR⁹R¹⁰, у якому кожний з R⁹ і R¹⁰ вибирають з H, C₁₋₆алкокси або C₁₋₆алкілу, необов'язково заміщеного галогеном, гідрокси, карбокси, аміно, C₁₋₆алкокси, C₁₋₆алкоксикарбонілом і C₁₋₆алкіламіно;

або її сіль;

за умови, що в тому випадку, коли A означає CR¹, R¹ означає Me, R² означає піридин або



В означає NR³, R³ означає Me, K, L, M означають CH, Y¹ означає O, і Z означає OR⁶, тоді R⁶ не означає H;

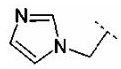
і за умови, що в тому випадку, коли A означає NR¹, R¹ означає H, R² означає феніл, B означає CR³, R³ означає феніл, K, L, M означають CH, Y¹ означає O, і Z означає OR⁶, тоді R⁶ не означає H;

і за умови, що в тому випадку, коли A означає S, R² означає бром, B означає CR³, R³ означає Me, K означає CH, L означає CH, M означає CR⁷, R⁷ означає H або Me, Y¹ означає O, і Z означає OR⁶, тоді R⁶ не означає H;

і за умови, що в тому випадку, коли A означає O, R² означає H, B означає CR³, R³ означає феніл, K, L, M означають CH, Y¹ означає O, і Z означає OR⁶, тоді R⁶ не означає H;

і за умови, що в тому випадку, коли A означає CR¹, R¹ означає Me, R² означає піридин, B означає NR³, R³ означає Me, K, L, M означають CH, Y¹ означає O, і Z означає OR⁶, R⁶ не означає Me;

і при додатковій умові, що в тому випадку, коли A означає CR¹, R¹ означає Me, R² означає

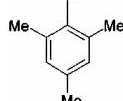


В означає NR³, R³ означає Me, K, L, M означають CH, Y¹ означає O, і Z означає OR⁶, тоді R⁶ не означає Et;

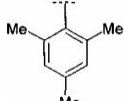
і при додатковій умові, що в тому випадку, коли A означає CR¹, R¹ означає CH, R² означає Me, B означає NR³, R³ означає Me, K, L, M означають CH, Y¹ означає O, і Z означає OR⁶, тоді R⁶ не означає Et;

і при додатковій умові, що в тому випадку, коли A означає CR¹, R¹ означає Et, R² означає Me, B означає NR³, R³ означає Me, K, L, M означають CH, Y¹ означає O, і Z означає OR⁶, то R⁶ не означає CH₂CH₂N(Me)₂;

і при додатковій умові, що в тому випадку, коли A означає CH, R² означає Me, B означає NR³,

R³ означає , K означає N, L означає

CR⁵, R⁵ означає Me, M означає CR⁷, R⁷ означає OH, Y означає O, і Z означає OR⁶, то тоді R⁶ не означає Et; і при додатковій умові, що в тому випадку, коли A означає NR¹, R¹ означає Me, R²

означає Br, B означає CR³, R³ означає ,

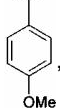
K означає N, L означає CR⁵, R⁵ означає Me, M означає CR⁷, R⁷ означає Br, Y¹ означає O, і Z означає OR⁶, то R⁶ не означає Me;

і при додатковій умові, що в тому випадку, коли A означає NR¹, R¹ означає H, R² означає Cl, B означає CR³, R³ означає Et, K означає CH, L означає CH, M означає CH, Y¹ означає O, Z означає OR, тоді R не означає Me;

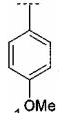
і при додатковій умові, що в тому випадку, коли A означає NR¹, R¹ означає H, R² означає феніл, B означає CR³, R³ означає феніл, K означає CH, L означає CH, M означає CR⁷, R⁷ означає Me, Y¹ означає O, Z означає OR⁶, тоді R⁶ не означає Et;

і при додатковій умові, що в тому випадку, ко-

ли А означає NR^1 , R^1 означає Н, R^2 означає

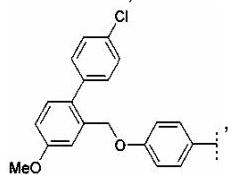


В означає CR^3 , R^3 означає



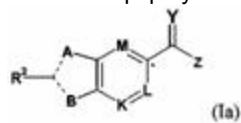
К означає СН, L

означає Н, М означає СН, Y^1 означає О, і Z означає OR^6 , тоді R^6 не означає Et; і при додатковій умові, що в тому випадку, коли А означає S, R^2 означає Br, В означає CR^3 , R^3 означає Me, К означає СН, L означає СН, М означає СН, Y^1 означає О, і Z означає OR^6 , тоді R^6 не означає Me; і при додатковій умові, що в тому випадку, коли А означає NR^1 , R^1 означає Н, R^2 означає



В означає NR^3 , R^3 означає циклогексил, К, L, М означає СН, Y^1 означає О, Z означає OR^6 , тоді R^6 не означає Н.

Як альтернатива, відповідно до першого аспекту даного винаходу, пропонується сполука, представлена формулою Ia



у якій:

А означає О, S, NR^1 або CR^1 ;

В означає NR^3 або CR^3 ;

R^1 вибирають із групи, яка складається з радикалів Н, (C_{1-6}) алкіл, бензил, (C_{1-6}) алкіл- (C_{6-10}) арил, (C_{1-6}) алкіл-5- або 6-членний гетероцикл, який містить 1-4 гетероатоми, вибраних з О, N і S, і 5- або 6-членний гетероцикл, який містить 1-4 гетероатоми, вибраних з О, N і S,

де вказаний бензил і вказаний гетероатом необов'язково заміщені 1-А замісниками, вибраними з групи, яка складається з замісників: COOH , $\text{COO}(\text{C}_{1-6})$ алкіл, галоген і (C_{1-6}) алкіл;

R^2 вибирають із групи, яка складається з Н, галогену, (C_{1-6}) алкілу, (C_{3-7}) циклоалкілу, фенілу, 5- або 6-членного гетероциклу, який містить від 1 до 4 гетероатомів, вибраних з О, N і S, піридин-N-оксиду і 9- або 10-членного гетеробіциклу, який містить 1-4 гетероатоми, вибраних з О, N і S,

вказані феніл, гетероцикл і гетеробіцикл необов'язково заміщені 1-4 замісниками, вибраними з групи, яка складається з наступних замісників: галоген, $\text{C}(\text{галоген})_3$, (C_{1-6}) алкіл, ОН, $\text{O}(\text{C}_{1-6})$ алкіл, NH_2 , і $\text{N}(\text{C}_{1-6})$ алкіл $_2$;

R^3 вибирають із групи, яка складається з 5-, 6- або 7-членного гетероциклу, який містить 1-4 гетероатоми, вибраних з О, N і S, норборнану, (C_{3-7}) циклоалкілу і (C_{3-7}) циклоалкіл- (C_{1-6}) алкіл;

М означає Н, CR^4 або COR^5 , де R^4 вибирають із групи, яка складається з радикалів Н, галоген і (C_{1-6}) алкіл; і R^5 вибирають із групи, яка складається з Н і (C_{1-6}) алкіл;

К і L означають Н або СН;

----- означає простий або подвійний зв'язок;

Y означає О;

Z являє собою OR^6 або NR^6R^{6a} , де R^6 вибирають із групи, яка складається з радикалів: Н, (C_{1-6}) алкіл, де вказаний алкіл необов'язково заміщений 1-4 замісниками, вибраними з наступних замісників: ОН, COOH , $\text{COO}(\text{C}_{1-6})$ алкіл, (C_{1-6}) алкіл, причому вказаний алкіл необов'язково заміщений 1-4 замісниками, вибраними з замісників: COOH , $\text{NHCO}(\text{C}_{1-6})$ алкіл, NH_2 , $\text{NH}(\text{C}_{1-6})$ алкіл і $\text{N}(\text{C}_{1-6})$ алкіл $_2$; або сіль цієї сполуки.

Відповідно до третього аспекту даного винаходу пропонується сполука формули I, або її фармацевтично прийнятна сіль, як інгібітор РНК-залежної РНК-полімеразної активності ферменту NS5B, який кодується HCV.

Відповідно до четвертого аспекту даного винаходу пропонується сполука формули I, або її фармацевтично прийнятна сіль, як інгібітор реплікації HCV.

Відповідно до п'ятого аспекту даного винаходу пропонується спосіб лікування або запобігання інфікування вірусом гепатиту С у ссавців, який включає введення ссавцю ефективної кількості сполуки формули I, або її фармацевтично прийнятної солі.

Відповідно до шостого аспекту даного винаходу пропонується фармацевтична композиція для лікування або запобігання інфікування вірусом гепатиту С, яка включає ефективну кількість сполуки формули I або її фармацевтично прийнятної солі і фармацевтично прийнятний носій.

Відповідно до спеціального варіанта здійснення винаходу фармацевтичні композиції включають додатковий імуномодуючий агент. Приклади додаткових імуномодуючих агентів включають, але не обмежуються вказаним, α -, β -, δ -, γ - і ω -інтерферони.

Відповідно до альтернативного варіанта здійснення винаходу фармацевтичні композиції, які є предметом даного винаходу, можуть додатково включати противірусний агент. Приклади противірусних агентів включають рибавирин і амантадин.

Відповідно до іншого альтернативного варіанта здійснення винаходу фармацевтичні композиції, які є предметом даного винаходу, можуть додатково включати інші інгібітори HCV-полімерази.

Згідно із ще одним альтернативним варіантом здійснення винаходу фармацевтичні композиції, які є предметом даного винаходу, можуть додатково включати інгібітор інших мішеней, які беруть участь у життєвому циклі HCV, таких як хеліказа, полімераза, металопротеаза або IRES.

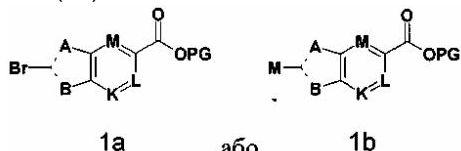
Відповідно до сьомого аспекту даного винаходу пропонується застосування сполуки формули I для приготування лікарського засобу для лікування інфікованих вірусом гепатиту С.

Відповідно до восьмого аспекту даного винаходу пропонується застосування сполуки формули I як інгібітор HCV-полімерази.

Відповідно до дев'ятого аспекту даного винаходу пропонується спосіб лікування або запобігання інфікування вірусом гепатиту С у ссавців, який включає введення ссавцю ефективної кількості

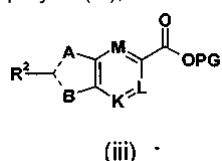
сполуки формули I, або її фармацевтично прийнятної солі в сполученні з іншим анти-HCV агентом.

Відповідно до десятого аспекту даного винаходу пропонується проміжна сполука формули (1a) або (1b):



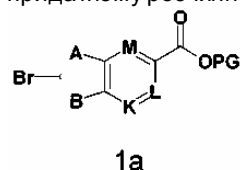
в якій A, B, K, L і M є такими, як визначено в тексті заявки, PG означає H або захисну групу для карбоксигрупи.

Відповідно до одинадцятого аспекту даного винаходу пропонується застосування проміжної сполуки формули (1a) для одержання сполуки формули (iii),



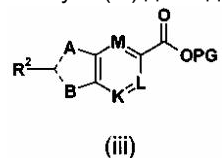
у якій A, R², B, K, L, M, і PG є такими, як визначено в тексті заявки, спосіб включає:

а) взаємодію в присутності металевого катализатора (наприклад, такого як Pd, Ni, Ru, Cu), основи і добавки (наприклад, такої як фосфіновий ліганд, сіль міді, сіль літію, сіль амонію, CsF) у придатному розчиннику проміжної сполуки (1a):



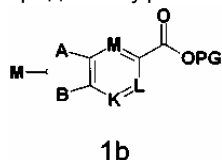
із сполукою R²-X, у якій R¹, R³, K, L, M і PG є такими, як визначено в тексті заявки, і X являє собою (але не обмежується вказаним): Sn(C₁₋₆алкіл)₃, Sn(арил)₃, галогенід металу, B(OH)₂ і B(O(C₁₋₆алкіл))₂, з одержанням при цьому сполуки формули (iii).

Як альтернатива одинадцятого аспекту даного винаходу пропонується застосування проміжної сполуки (1b) для одержання сполук формули (iii),



у якій A, R², B, K, L, M і PG є такими, як визначено в тексті заявки, спосіб включає:

б) взаємодію в присутності металевого катализатора (наприклад, такого як Pd, Ni, Ru, Cu), основи і добавки (наприклад, такої як фосфіновий ліганд, сіль міді, сіль літію, сіль амонію, CsF) у придатному розчиннику проміжної сполуки (1b)



із сполукою R²-X, у якій X являє собою галогенід, OSO₂(C₁₋₆алкіл), OSO₂Ar, OSO₂CF₃ і подібні замісники, і M являє собою метал, такий як as Li, Sn(C₁₋₆алкіл)₃, Sn(арил)₃, B(OH)₂, B(OC₁₋₆алкіл)₂, галогенід металу, з одержанням при цьому сполуки формули (iii).

Використовувана термінологія

Якщо не вказано інше, то використовуються наступні визначення.

При використанні в тексті заявки терміни "(C₁₋₃)алкіл", "(C₁₋₄)алкіл" або "(C₁₋₆)алкіл", що використовуються окремо або разом з іншим радикалом, як передбачається, означають ациклічні алкільні радикали з лінійним або розгалуженим ланцюгом, які містять до трьох, чотирьох або шести атомів вуглецю, відповідно. Приклади таких радикалів включають метил, етил, пропіл, бутіл, гексил, 1-метилетил, 1-метилпропіл, 2-метилпропіл, 1,1-диметилетил.

При використанні в тексті заявки термін "(C₂₋₆)алкеніл", що використовується окремо або разом з іншим радикалом, як передбачається, позначає ненасичений ациклічний алкільний радикал з лінійним ланцюгом, який містить від двох до шести атомів вуглецю.

При використанні в тексті заявки термін "(C₂₋₆)алкініл", що використовується окремо або разом з іншою групою, як передбачається, позначає ненасичений sp-гібридизований ациклічний радикал з лінійним ланцюгом, який містить від двох до шести атомів вуглецю.

При використанні в тексті заявки термін "(C₃₋₇)циклоалкіл", що використовується окремо або разом з іншим радикалом, означає циклоалкільний радикал, який містить від трьох до семи атомів вуглецю, цей термін включає циклопропіл, циклобутил, цикlopентил, циклогексил і циклогептил.

При використанні в тексті заявки термін "(C₅₋₇)циклоалкеніл", що використовується окремо або разом з іншим радикалом, позначає ненасичений циклічний радикал, який містить від п'яти до семи атомів вуглецю.

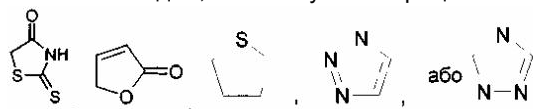
При використанні в тексті заявки термін "захисна група для карбоксигрупи" стосується захисної групи, яка може бути використана при здійсненні взаємодії, такі групи перераховані в: [Greene, "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley & Sons, New York (1981)], а також у: ["The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology", Vol.3, Academic Press, New York (1981)], включені в даний опис як посилання.

α-Карбоксильну групу залишку з кінцевим C-атомом звичайно захищають і використовують у вигляді складноефірної групи (CPG), яку можна видалити з одержанням при цьому групи карбонової кислоти. Захисні групи, які можуть бути використані, включають: 1) алкілові складні ефіри, наприклад такі як метиловий, триметилсилілетиловий і трет-бутиловий, 2) аралкілові складні ефіри, наприклад такі як бензиловий і заміщений бензиловий, або 3) складноефірні групи, які можуть бути відщеплені при обробці м'якою основою або м'якими відновлюючими засобами, наприклад, такі як трихлоретилова і фенацилова складноефірна група.

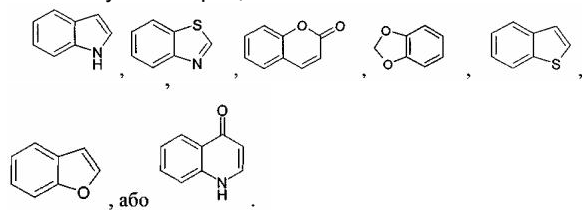
При використанні в тексті заявки термін "арил", або "6- або 10-членний арил", що використовується окремо або разом з іншим радикалом, означає ароматичний радикал, який містить шість або десять атомів вуглецю, наприклад феніл або нафтил.

При використанні в тексті заявки термін «гетероатом» означає O, S або N.

При використанні в тексті заявки термін "гетероцикл", що використовується окремо або разом з іншим радикалом, означає моновалентний радикал, отриманий за допомогою видалення атома вуглецю з п'яти-, шести-, або семичленного насиченого або ненасиченого (включаючи ароматичний) гетероциклу, який містить від одного до чотирьох гетероатомів, вибраних з азоту, кисню і сірки. Крім того, термін "гетероцикл" при використанні в тексті заявки означає гетероцикл, відповідно до наведеного вище визначення, спряжений з одним або більше іншим циклом, який може бути або гетероциклом, або яким-небудь іншим циклом. Приклади таких гетероциклів включають, але не обмежуються вказаним, піролідін, тетрагідрофуран, тіазолідін, пірол, тіофен, кумарин, гідантоїн, діазепін, 1H-імідазол, ізоксазол, тіазол, тетразол, піперидин, 1,4-діоксан, 4-морфолін, піридин, піридин-N-оксид, піримідин, тіазоло [4,5-b]-піридин, хінолін або індол, або наступні гетероцикли:



При використанні в тексті заявки термін "9- або 10-членний гетеробіцикл" або "гетеробіцикл", що використовується окремо або разом з іншим радикалом, означає гетероцикл, відповідно до наведеного вище визначення, спряжений з одним або більше іншим циклом, який може бути або гетероциклом, або яким-небудь іншим циклом. Приклади таких гетероциклів включають, не обмежуючись вказаним, тіазоло[4,5-b]-піридин, хінолін або індол, або наступні гетероцикли:



При використанні в тексті заявки термін "Het" означає 5- або 6-членний гетероцикл, який містить від 1 до 4 гетероатомів, вибраних з O, N і S, або 9- або 10-членний гетеробіцикл, який містить, де це можливо, від 1 до 5 гетероатомів, вибраних з O, N і S.

При використанні в тексті заявки термін "галоген" означає атом галогену і включає фтор, хлор, бром і йод.

При використанні в тексті заявки термін "галогеналкіл", як передбачається, означає алкіл, як це визначено вище, у якому кожен атом водню може бути послідовно замінений атомом галогену, наприклад, CH_2Br або CF_3 .

При використанні в тексті заявки термін "галогенід металу", як передбачається, означає будь-який метал, який зв'язаний з атомом галогену, і який призначений для використання в реакції крос-сполучення, яка каталізується металами. Приклади таких галогенідів металів включають, але не обмежуються вказаним, $-\text{MgCl}$, $-\text{CuCl}$, або $-\text{ZnCl}$ і подібні до них галогеніди.

При використанні в тексті заявки термін "ОН" означає гідроксильну групу. Фахівцю в даній галузі техніки добре відомо, що гідроксильна група може бути замінена еквівалентними функціональними групами. Приклади таких еквівалентів функціональної групи, що розглядаються відповідно до даного винаходу, включають, але не обмежуються вказаним, прості ефірні групи, сульфгідрильні групи, і первинні, вторинні і третинні аміногрупи.

При використанні в тексті заявки термін "SH" означає сульфгідрильну групу. Передбачається, що в рамках даного винаходу, незалежно від того, чи присутня група "SH" чи група "SR", вона також може бути замінена групою в будь-якому іншому придатному стані окислення, наприклад, такою групою, як SOR, SO_2R або SO_3R .

Передбачається, що термін "заміщений", у тому випадку, коли він використовується у відношенні радикала, який містить більш ніж один фрагмент, такого як C_{1-6} алкіл-арил, або C_{1-6} алкіл-Het, означає заміщення, що стосується обох фрагментів, тобто як алкіл, так і арил або фрагменти Het можуть бути заміщені певними замісниками.

При використанні в тексті заявки термін "COOH" означає групу карбонової кислоти. Фахівцям у даній галузі техніки добре відомо, що групи карбонової кислоти можуть бути замінені еквівалентними функціональними групами. Приклади таких еквівалентних функціональних груп, які розглядаються відповідно до даного винаходу, включають, але не обмежуються вказаним, складноєфірні групи, амідні групи, групи боронових кислот або тетразолні групи.

При використанні в тексті заявки термін "еквівалентна функціональна група", як передбачається, означає, фрагмент або його заміщене функціональне похідне, які можуть бути замінені іншим фрагментом, який має подібні електронні властивості, аналогічні гібридизацію і реакційну здатність.

При використанні в тексті заявки термін "каталізатор на основі металу", як передбачається, означають метал, наприклад, такий як паладій (0) або паладій (2), який зв'язується з групою, що відщеплюється, і призначений для використання в реакції крос-сполучення. Приклади таких каталізаторів на основі паладію включають, але не обмежуються вказаним, $\text{Pd}(\text{Ph}_3)_4$, Pd/C , $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, PdCl_2 і подібні до них каталізатори. Альтернативні сполуки металу, які можуть каталізувати реакції крос-сполучення, включають, але не обмежуються вказаним, $\text{Ni}(\text{acac})_2$, $\text{Ni}(\text{OAc})_2$ або NiCl_2 .

При використанні в тексті заявки термін "похідне", як передбачається, означає "детектовану мітку", "афінну мітку" або "фотореактивну групу". Термін "детектована мітка" означає будь-яку групу, яка може зв'язуватися з полімеразою або із сполукою, яка є предметом даного винаходу, причому

таку, що в тому випадку, коли сполука приєднується до мішені - полімерази, така мітка дозволяє здійснити прямо або посередньо розпізнавання сполуки, таким чином, що можливо знайти, виміряти і визначити кількість сполуки. Приклади таких "міток", як передбачається, включають, але не обмежуються вказаним, флуоресцентні мітки, хемілюмінесцентні мітки, колориметричні мітки, ферментативні маркери, радіоактивні ізотопи й афінні мітки, наприклад, такі як біотин. Ці мітки приєднують до сполуки або до полімерази відповідно до добре відомих методик.

Термін "афінна мітка" означає ліганд (який приєднується до полімерази або до сполуки, яка є предметом даного винаходу), сильна спорідненість якого до рецептора може бути використана для того, щоб виділити з розчину об'єкт, до якого приєднався ліганд. Приклади таких лігандів включають біотин або його похідне, поліпептид на основі гістидину, поліаргінін, амілозний фрагмент сахариду або певний епітоп, який розпізнається специфічними антитілами. Такі афінні мітки приєднують до сполуки або до полімерази відповідно до добре відомих методик.

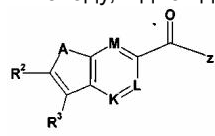
Термін "фотореактивна група" означає групу, яка при активації під впливом світла трансформується з інертної групи в реакційноздатну, наприклад таку, як вільний радикал. Приклади таких груп включають, але не обмежуються вказаним, бензофенонові, азидні і подібні до них групи.

При використанні в тексті заявки термін "фармацевтично прийнятна сіль" включає такі солі, які отримані з використанням фармацевтично прийнятних основ і є нетоксичними. Приклади придатних основ включають холін, етаноламін і етилєндіамін. В обсяг даного винаходу також входять солі Na^+ , K^+ і Ca^{++} (див. також [Pharmaceutical salts, Birge, S.M. et al., J. Pharm. Sci., (1977), 66, 1-19], включене в даний опис як посилання).

Найбільш переважні варіанти здійснення винаходу

A:

Переважно, сполуки, які є предметом даного винаходу, відповідають наступній формулі (II):

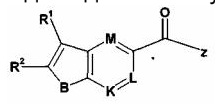


(II)

у якій, переважно, A означає O, S або NR^1 .

Переважно, A означає NR^1 .

Переважно, сполуки згідно із даним винаходом відповідають наступній формулі (III):

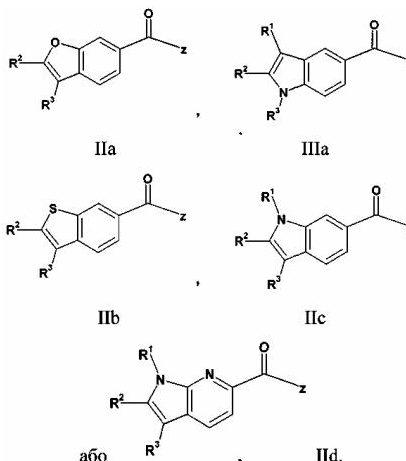


(III)

у якій, переважно, B означає NR^3 .

Що стосується сполук формули (II) і (III), переважно, M, K і L означають CH або N. Більш переважно, M, K і L означають CH.

Більш переважно, сполуки згідно із даним винаходом представлені наступними формулами:



Переважно, R^1 вибирають із групи, яка складається з H або (C_{1-6}) алкілу. Більш переважно, R^1 являє собою H, CH_3 , ізопропіл або ізобутил. Навіть більш переважно, R^1 означає H або CH_3 . Найбільш переважно, R^1 означає CH_3 .

R^2 :

Переважно, R^2 вибирають з H, галогену, (C_2-6) алкенілу, (C_{5-7}) циклоалкенілу, 6- або 10-членного арилу або Het; де (C_{2-6}) алкеніл, (C_{5-7}) циклоалкеніл, арил або Het необов'язково заміщені радикалом R^{20} , де R^{20}

визначають як:

- 1-4 замісники, вибрані з галогену, NO_2 , ціано, азидо, $\text{C}(\text{=NH})\text{NH}_2$, $\text{C}(\text{=NH})\text{NH}(\text{C}_{1-6})$ алкілу або $\text{C}(\text{=NH})\text{NHCO}(\text{C}_{1-6})$ алкілу; або

- 1-4 замісники, вибрані з:

а) (C_{1-6}) алкілу або галогеналкілу, (C_{3-7}) циклоалкілу, (C_{2-6}) алкенілу, (C_{2-8}) алкінілу, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкілу, кожний з яких необов'язково заміщений радикалом R^{150} ;

б) OR^{104} , де R^{104} являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

в) OCOR^{105} , де R^{105} являє собою (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet необов'язково заміщені радикалом R^{150} ;

г) SR^{108} , $\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^{108})_2$ або $\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^{108})\text{C}(\text{O})\text{R}^{108}$, де кожен R^{108} незалежно являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet або обидва R^{108} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, вказаний алкіл, циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet або гетероцикл необов'язково заміщений радикалом R^{150} ;

д) $\text{NR}^{111}\text{R}^{112}$ де R^{111} являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил або (C_{1-6}) алкілHet, і R^{112} являє собою H, CN, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіларил, (C_{1-6}) алкілHet, COOR^{115} або $\text{SO}_2\text{R}^{115}$

де R^{115} являє собою (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het, або обидва R^{111} і R^{112} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони приєднані, з утворенням при цьому 5, 6 або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het, або гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{150} ,

е) $NR^{116}COR^{117}$, де R^{116} і R^{117} кожний являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het необов'язково заміщений радикалом R^{150} ,

ж) $NR^{118}CONR^{119}R^{120}$, де R^{118} , R^{119} і R^{120} кожний являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het, або R^{118} ковалентно зв'язаний з радикалом R^{119} і з атомом азоту, до якого вони приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу;

або R^{119} і R^{120} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони обидва приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу;

причому вказані алкіл, циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het або гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{150} ,

з) $NR^{121}COCOR^{122}$, де R^{121} і R^{122} кожний являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, 6- або 10-членний арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het, причому вказані алкіл, циклоалкіл, алкіл-циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het необов'язково заміщені радикалом R^{150} ,

або R^{122} являє собою OR^{123} або $N(R^{124})_2$, де R^{123} і кожен R^{124} незалежно являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het, або R^{124} являє собою OH або $O(C_{1-6})$ алкіл, або обидва R^{124} ковалентно зв'язані разом з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, вказані алкіл, циклоалкіл, алкіл-циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het і гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{150} ; і) COR^{127} , де R^{127} являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het, причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het необов'язково заміщені радикалом R^{150} ,

к) $COOR^{128}$, де R^{128} являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het, причому вказані (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил і (C_{1-6}) алкіл)Het необов'язково заміщені радикалом R^{150} ,

л) $CONR^{129}R^{130}$, де R^{129} і R^{130} незалежно являють собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het, або обидва R^{129} і R^{130} ковалент-

но зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, вказані алкіл, циклоалкіл, алкіл-циклоалкіл, арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил, (C_{1-6}) алкіл)Het і гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{150} ; м) арил, Het, (C_{1-6}) алкіл)арил або (C_{1-6}) алкіл)Het, кожний з яких необов'язково заміщений радикалом R^{150} ; де R^{150} переважно означає

- 1-3 замісники, вибрані з галогену, NO_2 , ціано або азидо; або

- 1-3 замісники, вибрані з:

а) (C_{1-6}) алкілу або галогеналкілу, (C_{3-7}) циклоалкілу, (C_{2-6}) алкенілу, (C_{2-8}) алкінілу, (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкілу, кожний з яких необов'язково заміщений радикалом R^{160} ,

б) OR^{104} , де R^{104} являє собою H, (C_{1-6}) алкіл) або (C_{3-7}) циклоалкіл, вказані алкіл або циклоалкіл необов'язково заміщені радикалом R^{160} ,

г) SR^{108} , $SO_2N(R^{108})_2$ або $SO_2N(R^{108})C(O)R^{108}$, де кожен R^{108} незалежно являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл, арил, Het, або обидва R^{108} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл, арил, Het і гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{160} ,

д) $NR^{111}R^{112}$, де R^{111} являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, або (C_{3-7}) циклоалкіл, і R^{112} являє собою H, (C_{1-6}) алкіл або (C_{3-7}) циклоалкіл, $COOR^{115}$ або SO_2R^{115} , де R^{115} являє собою (C_{1-6}) алкіл або (C_{3-7}) циклоалкіл, або обидва R^{111} і R^{112} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл і гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{160} ,

е) $NR^{116}COR^{117}$, де R^{116} і R^{117} кожний являють собою H, (C_{1-6}) алкіл або (C_{3-7}) циклоалкіл, причому вказані (C_{1-6}) алкіл і (C_{3-7}) циклоалкіл необов'язково заміщені радикалом R^{160} ,

ж) $NR^{118}CONR^{119}R^{120}$, де кожний з R^{118} , R^{119} і R^{120} являє собою H, (C_{1-6}) алкіл або (C_{3-7}) циклоалкіл, або R^{118} ковалентно зв'язаний з радикалом R^{119} і з атомом азоту, до якого вони приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу;

або R^{119} і R^{120} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони приєднані, з утворенням при цьому 5, 6 або 7-членного насиченого гетероциклу; причому вказані алкіл, циклоалкіл і гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{160} ,

з) $NR^{121}COCOR^{122}$, де R^{121} являє собою H, (C_{1-6}) алкіл або (C_{3-7}) циклоалкіл, причому вказані алкіл і циклоалкіл необов'язково заміщені радикалом R^{160} ,

або R^{122} являє собою OR^{123} або $N(R^{124})_2$, де R^{123} і кожен R^{124} незалежно являє собою H, (C_{1-6}) алкіл) або (C_{3-7}) циклоалкіл, або обидва R^{124} ковалентно зв'язані разом з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу, причому вказані алкіл, циклоалкіл і гетероцикл необов'язково заміщені радикалом R^{160} ,

і) COR^{127} , де: R^{127} являє собою H, (C_{1-6}) алкіл або (C_{3-7}) циклоалкіл, вказані алкіл і циклоалкіл необов'язково заміщені радикалом R^{160} ;

к) COOR^{128} , де R^{128} являє собою H, (C_{1-6}) алкіл або (C_{3-7}) циклоалкіл, вказаний (C_{1-6}) алкіл і (C_{3-7}) циклоалкіл необов'язково заміщені радикалом R^{160} ; і

л) $\text{CONR}^{129}\text{R}^{130}$, де R^{129} і R^{130} незалежно являють собою H, (C_{1-6}) алкіл або (C_{3-7}) циклоалкіл, або обидва R^{129} і R^{130} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони приєднані, з утворенням при цьому 5, 6 або 7-членного насиченого гетероциклу, вказаний алкіл, циклоалкіл і гетероцикл необов'язково заміщений радикалом R^{160} ;

де R^{160} визначають як 1 або 2 замісники, вибрані з галогену, CN, C_{1-6} алкілу, галогеналкілу, COOR^{161} , OR^{161} , $\text{N}(\text{R}^{162})_2$, $\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^{162})_2$, $\text{NR}^{162}\text{COR}^{162}$ або $\text{CON}(\text{R}^{162})_2$, де R^{161} і кожен R^{162} незалежно являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або (C_{1-6}) алкіл- (C_{3-7}) циклоалкіл; або обидва R^{162} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони приєднані, з утворенням при цьому 5-, 6- або 7-членного насиченого гетероциклу.

Більш переважно, R^2 вибирають з арилу або Het, кожний з яких необов'язково монозаміщений або дизаміщений замісниками, вибраними з групи, яка складається з галогену, галогеналкілу, N_3 або

а) (C_{1-6}) алкілу, необов'язково заміщеного групою OH, $\text{O}(\text{C}_{1-6})$ алкіл або $\text{SO}_2(\text{C}_{1-6})$ алкіл;

б) (C_{1-6}) алкокси;

д) $\text{NR}^{111}\text{R}^{112}$, де обидва R^{111} і R^{112} незалежно являють собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл або R являє собою 6- або 10-членний арил, Het, (C_{1-6}) алкіл-арил або (C_{1-6}) алкіл-Het; або обидва R^{111} і R^{112} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони приєднані, з утворенням при цьому азотвмісного гетероциклу, кожний із вказаних алкілу, циклоалкілу, арилу, Het, алкіл-арилу або алкіл-Het необов'язково заміщений галогеном або:

- OR^{161} або $\text{N}(\text{R}^{162})_2$, де R^{161} і кожен R^{162} являє собою незалежно H, (C_{1-6}) алкіл, або обидва R^{162} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони приєднані, з утворенням при цьому азотвмісного гетероциклу;

е) NHCOR^{117} , де R^{117} являє собою (C_{1-6}) алкіл, $\text{O}(\text{C}_{1-6})$ алкіл або $\text{O}(\text{C}_{3-7})$ циклоалкіл;

і) CO-арил; і

л) CONH_2 , $\text{CONH}(\text{C}_{1-6})$ алкіл, $\text{CON}(\text{C}_{1-6})$ алкіл) $_2$, CONH -арил, або CONHC_{1-6} алкіл-арил.

Ще більш переважно, коли R^2 являє собою арил або Het, кожний з яких необов'язково монозаміщений або дизаміщений замісниками, вибраними з групи, яка складається з галогену, галогеналкілу або

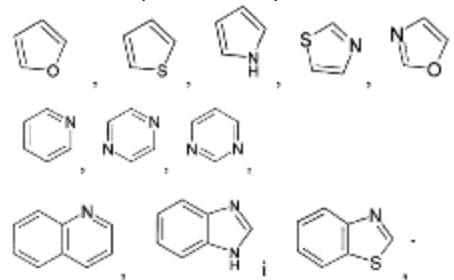
а) (C_{1-6}) алкілу, необов'язково заміщеного групою OH, $\text{O}(\text{C}_{1-6})$ алкіл або $\text{SO}_2(\text{C}_{1-6})$ алкіл;

б) (C_{1-6}) алкокси; і

д) $\text{NR}^{111}\text{R}^{112}$, де обидва R^{111} і R^{112} незалежно являють собою H, (C_{1-6}) алкіл, (C_{3-7}) циклоалкіл, або R^{112} являє собою 6- або 10-членний арил, Het, (C_{1-6}) алкіл-арил або (C_{1-6}) алкіл-Het; або обидва R^{111} і R^{112} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони приєднані, з утворенням при цьому азотвмісного гетероциклу, кожний із вказаних алкілу, циклоалкілу, арилу, Het, алкіл-арилу або алкіл-Het необов'язково заміщений галогеном або:

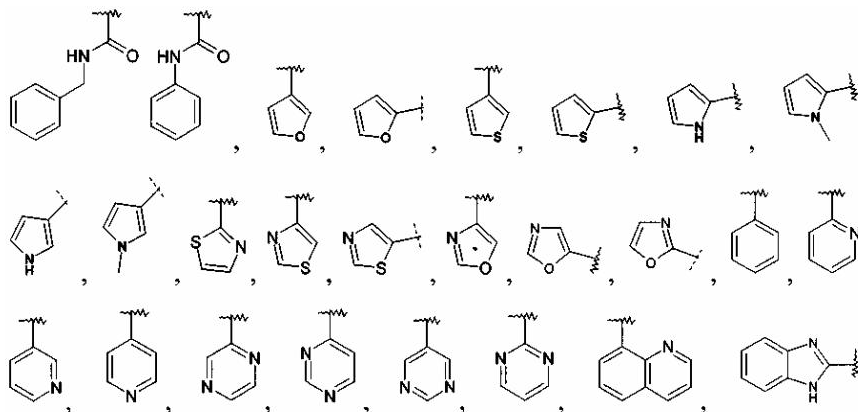
- OR^{161} або $\text{N}(\text{R}^{162})_2$, де R^{161} і кожен R^{162} являє собою незалежно H, (C_{1-6}) алкіл, або обидва R^{162} ковалентно зв'язані один з одним і з атомом азоту, до якого вони приєднані, з утворенням при цьому азотвмісного гетероциклу.

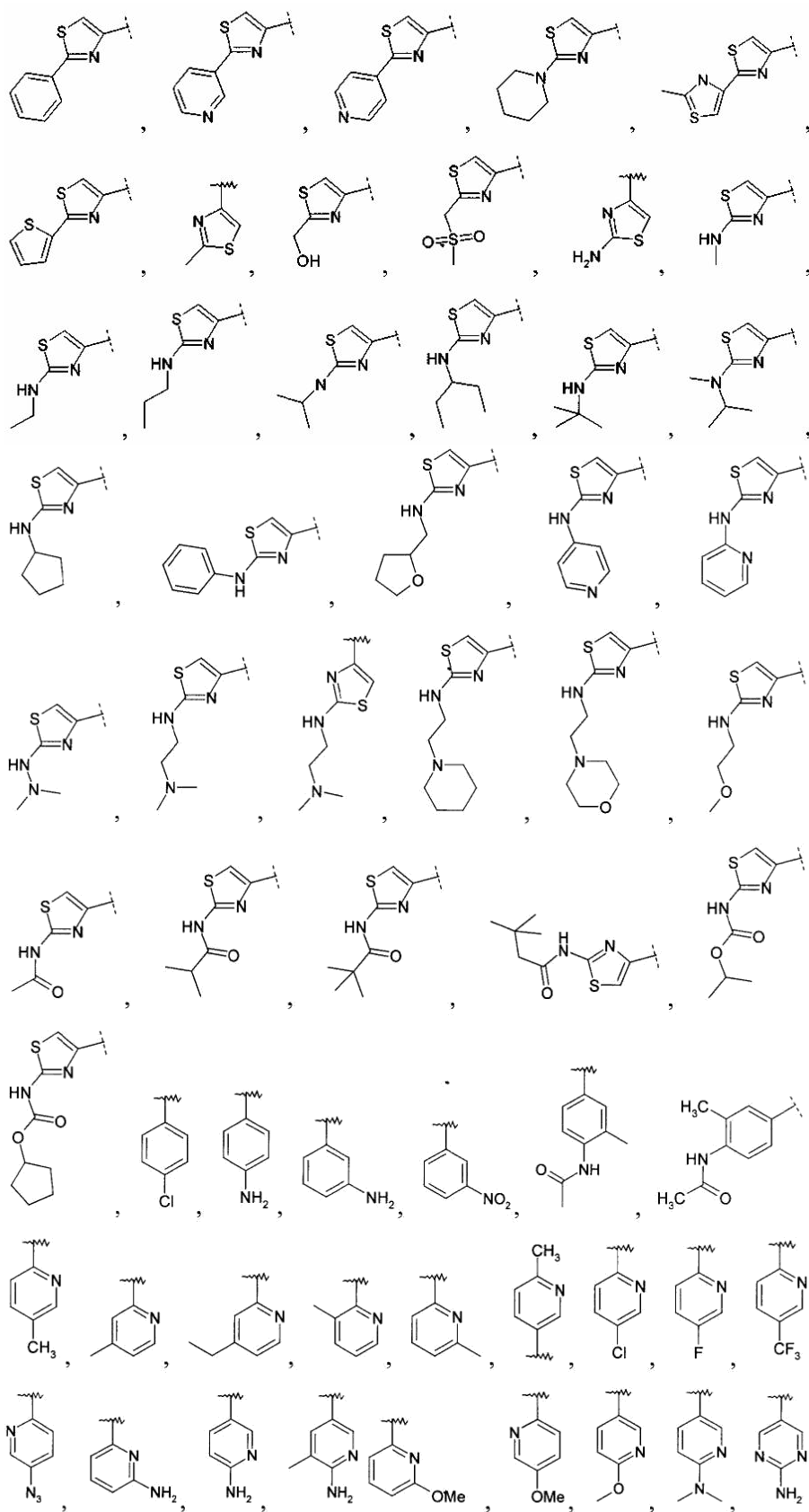
Навіть більш переважно, коли R^2 означає феніл або гетероцикл, вибраний з

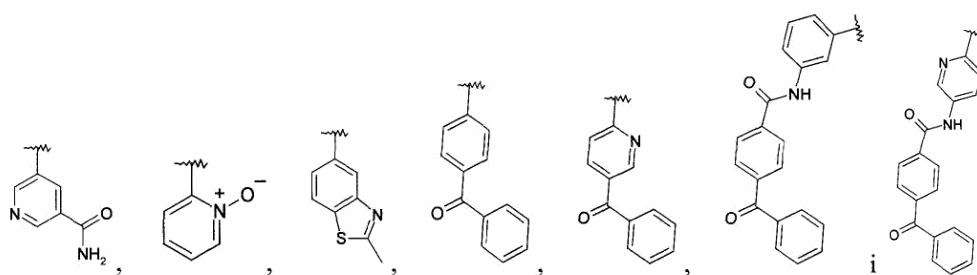


кожний з яких необов'язково заміщений таким чином, як визначено вище.

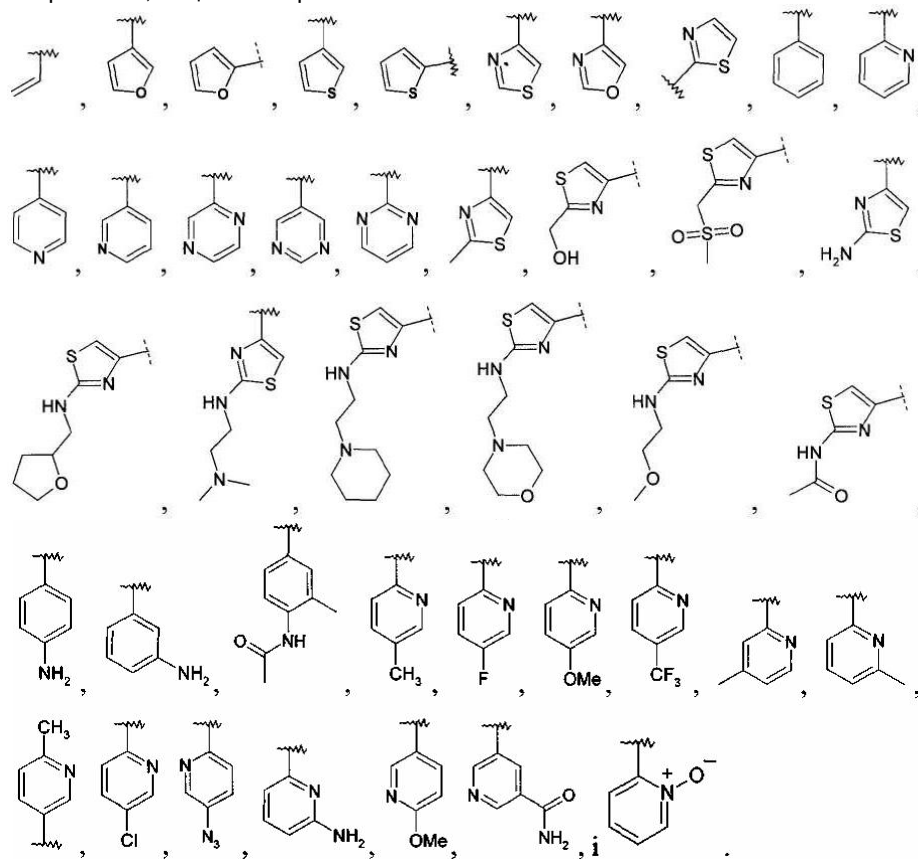
Навіть більш переважно, якщо R вибирають із групи, яка складається з H, Br, $\text{CH}=\text{CH}_2$,



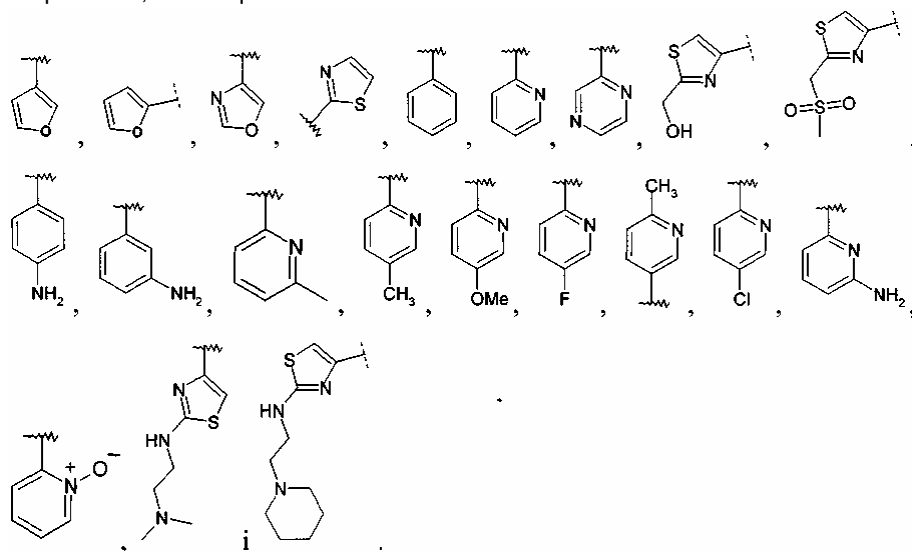




Ще більш переважно, якщо R вибирають з



Найбільш переважно, R² вибирають з:



R^3 :

Переважно, R^3 вибирають з (C_{3-7}) циклоалкілу, (C_{3-7}) циклоалкенілу, (C_{6-10}) біциклоалкілу, (C_{6-10}) біциклоалкенілу, 6- або 10-членного арилу або Het. Більш переважно, R означає (C_{3-7}) циклоалкіл. Найбільш переважно, R^3 означає цикlopентил або циклогексил.

Y:

Переважно, Y^1 означає O.

Z:

Переважно, Z означає OR^6 , де: R^6 являє собою H, (C_{1-6}) алкіл, необов'язково заміщений радикалом галоген, гідрокси, карбокси, аміно, C_{1-6} алкокси, C_{1-6} алкоксикарбоніл і C_{1-6} алкіламіно; або R^6 являє собою C_{1-6} алкіларил, необов'язково заміщений галогеном, ціано, нітро, C_{1-6} алкілом, C_{1-6} галогеналкілом, C_{1-6} алканоліом, $(CH_2)_{1-6}-COOR^7$, $-(CH_2)_{1-6}-CONR^7R^8$, $-(CH_2)_{1-6}-NR^7R^8$, $-(CH_2)_{1-6}-NR^7COR^8$, $-(CH_2)_{1-6}-NHSO_2R^7$, $-(CH_2)_{1-6}-OR^7$, $-(CH_2)_{1-6}-SR^7$, $-(CH_2)_{1-6}-SO_2R^7$, і $-(CH_2)_{1-6}-SO_2NR^7R^8$, де кожен R^7 і кожен R^8 являє собою H або C_{1-6} алкіл, або Z являє собою NR^9R^{10} , де: кожний з R^9 і R^{10} вибирають з наступних радикалів: H, C_{1-6} алкокси, або C_{1-6} алкіл, необов'язково заміщений галогеном, гідрокси, карбокси, аміно, C_{1-6} алкокси, C_{1-6} алкоксикарбоніл і C_{1-6} алкіламіно.

Більш переважно, Z означає OH або $O(C_{1-6})$ алкіл), або Z означає NR^9R^{10} , де R^9 означає переважно H, і R^{10} означає переважно H або C_{1-6} алкіл.

Найбільш переважно, Z означає OH.

Конкретні варіанти здійснення винаходу

В обсяг даного винаходу входять усі сполуки формули I, які представлені в таблицях 1 і 2.

Активність полімерази

Здатність сполук формули (I) інгібувати синтез РНК, який здійснюється під впливом РНК-залежної РНК-полімерази вірусу гепатиту С, може бути оцінена за будь-якою методикою, придатною для вимірювання активності РНК-залежної РНК-полімерази. Придатна методика описана в прикладах.

Специфічність активності РНК-залежної РНК-полімерази

Для того, щоб показати, що сполуки, які є предметом даного винаходу, специфічно інгібують активність HCV-полімерази, сполуки були протестовані у відношенні інгібуючої активності за методикою з використанням ДНК-залежної РНК-полімерази.

У тому випадку, коли сполуку формули (I), або одну з її терапевтично прийнятних солей використовують як протівірусний агент, цю сполуку вводять перорально, місцево або системно ссавцям, наприклад, людям, кроликам або мишам, разом з наповнювачем, який включає один або більше фармацевтично прийнятний носій, кількісне співвідношення якого визначається розчинністю і хімічною природою сполуки, вибраним способом введення і загальноприйнятною біологічною практикою.

Для перорального введення сполука або терапевтично прийнятна сіль можуть бути виготовлені за рецептурою у вигляді одиничних дозованих форм, таких як капсули або таблетки, кожна з яких містить певну кількість активного інгредієнта, яка

змінюється від приблизно 25 до 500мг, у фармацевтично прийнятному носії.

Для місцевого введення може бути виготовлена за рецептурою композиція, яка містить сполуку у фармацевтично прийнятному носії, із вмістом активного агента від 0,1 до 5 відсотків, переважно 0,5 до 5 відсотків. Такі композиції можуть знаходитися у формі розчину, крему або лосьйона.

У випадку парентерального введення сполуку формули (I) вводять внутрішньовенною або підшкірною, або внутрішньом'язовою ін'єкцією, у вигляді композиції з фармацевтично прийнятними наповнювачами або носіями. Для введення за допомогою ін'єкції переважно використовувати сполуку у вигляді розчину в стерильному водному розріджувачі, який також може містити інші розчинені речовини, такі як буферні засоби або консерванти, а також достатню кількість фармацевтично прийнятних солей або глюкози, для того, щоб розчин був ізотонічним.

Придатні наповнювачі або носії для вищевказаних композицій описані в посібниках з фармацевтики, наприклад у ["Remington's The Science and Practice of Pharmacy", 19th ed., Mack Publishing Company, Easton, Penn., 1995, або в посібнику "Pharmaceutical Dosage Forms and Drugs Delivery Systems", 6th ed., H.C. Ansel et al., Eds., Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, 1995].

Дозування сполук буде істотно змінюватися залежно від форми введення і конкретного вибраного активного агента. Крім того, воно буде значно змінюватися для різних конкретних пацієнтів. Як правило, лікування починають з невеликого поступового збільшення дози, доти, поки не буде досягнутий оптимальний за даних обставин ефект. Як правило, сполуку формули I найбільш бажано вводити в концентрації, рівень якої дозволяє в основному досягти ефективного протівірусного впливу, не виявляючи при цьому якої-небудь шкідливої або небезпечної побічної дії.

Для перорального введення сполуку або терапевтично прийнятну сіль вводять у кількості, яка знаходиться в інтервалі від 10 до 200мг на кілограм маси тіла в день, переважно, в інтервалі від 25 до 150мг на кілограм.

При системному введенні сполуку формули (I) вводять у дозі від 10мг до 150мг на кілограм маси тіла в день, хоча можливі вказані вище варіації. Для того, щоб вплив був ефективним, найбільш переважне дозування, яке знаходиться в інтервалі від приблизно 10мг до 100мг на кілограм маси тіла в день.

У тому випадку, коли композиції згідно із даним винаходом включають комбінацію сполуки формули I і одного або більше терапевтичного або профілактичного агента, обидві сполуки і додатковий агент повинні бути присутні у такій кількості, щоб дозування становило від приблизно 10 до 100%, і більш переважно, між приблизно 10 і 80% від дозування, яке вводиться звичайно при використанні режиму монотерапії.

У тому випадку, коли ці сполуки або їх фармацевтично прийнятні солі використані для приготування композиції разом з фармацевтично прийня-

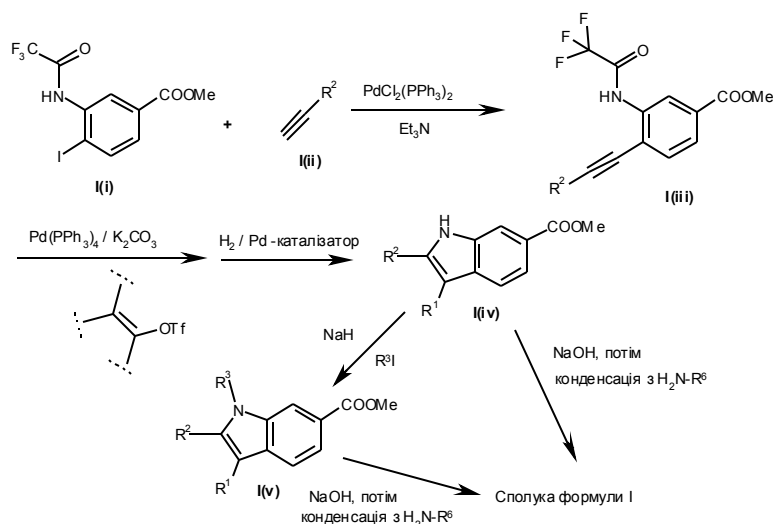
тим носієм, отримана композиція може бути введена *in vivo* ссавцю, такому як людина, для того, щоб інгібувати активність HCV-полімерази, або для лікування або запобігання інфекційного вірусного захворювання, яке викликається HCV. Таке лікування також може бути досягнуте при використанні сполук, які є предметом даного винаходу, у сполученні з агентами, які включають, але не обмежуються вказаним, наступне: імуномодуючі агенти, такі як α -, β -, δ - або γ -інтерферони, інші противірусні агенти, такі як рибавірин, амантадин, інші інгібітори NS5B HCV-полімерази, інгібітори інших мішеней, які беруть участь у життєвому циклі HCV, що включають, але не обмежуються вказаним, наступне: хеліказу, NS2/3-протеазу, NS3-протеазу або внутрішній сайт входу рибосоми (IRES - від англ. internal ribosome entry site); або їх комбінацію. Для створення одичної дозованої форми із сполуками згідно із даним винаходом

можуть бути об'єднані додаткові агенти. Як альтернатива такі додаткові агенти можуть бути введені ссавцю окремо як частина складеної дозованої форми.

Методологія і синтез

Похідні індолу або аналоги згідно із даним винаходом можуть бути отримані з відомих моноциклічних ароматичних сполук при здійсненні, з необхідною модифікацією, відомих з літератури послідовних реакцій, наприклад, таким чином, як описано в статті [J. W. Ellingboe et al., Tet. Lett., 1997, v.38, p.7963 і в статті S. Cacchi et al., Tet. Lett., 1992, v.33, p.3915]. На схемі 1, наведений нижче, значення R^1 , R^2 , R^3 , R^6 , K, L і Me є такими, як вказано в тексті заявки, на цій схемі показано, яким чином вказані методики можуть бути використані для синтезу сполуки формули 1, яка є предметом даного винаходу.

Схема 1



При здійсненні способу, показаного на схемі 1, придатним способом захищена 3-трифторацетамідо-4-йодбензойна кислота I(i) взаємодіє з алкіном I(ii) у присутності каталізатора на основі металу (наприклад, комплексу металевого паладію, такого як $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$, Pd_2dba_3 , $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ і подібної до них сполуки), основи (Et_3N , ДІЕА і подібна сполука, або сіль неорганічної основи, включаючи карбонати металів, фториди і фосфати), і, необов'язково, у присутності додаткового фосфінового ліганду (триарил- або гетероарилфосфін, dprpe (1,2-біс(дифенілфосфіно)етан), dprpf (1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен), dprpp (1,3-біс(дифенілфосфіно)пропан) і подібні до них ліганди). Придатні розчинники для проведення цієї реакції включають ДМФ, діоксан, ТГФ, ДМЕ (1,2-диметоксіетан) толуол, MeCN, ДМА і подібні до них розчинники, при температурі, яка змінюється від 20°C до 170°C , або, як альтернатива, без розчинника при спільному нагріванні компонентів. Як альтернатива, у реакції крос-сполучення може бути використаний 3-аміно-4-йодбензоат у придатно захищеному вигляді, а аміногрупа може бути

піддана трифторацетилюванню на наступній стадії, як описано в статті [J.W. Ellingboe et al., Tet. Lett., 1997, v.38, p.7963].

Реакція вищевказаних діарилалкінів I(iii) із трифлатом енолу в умовах реакції крос-сполучення, аналогічних до описаних вище умов, дозволяє одержати після гідратування похідне індолу I(iv). Трифлати енолу відомі і можуть бути отримані з відповідних кетонів відповідно до відомих з літератури методів (наприклад, трифлат циклогексену може бути отриманий з циклогексанону, ангідриду трифторметансульфонової кислоти (triflic anhydride) і просторово утрудненої органічної основи, наприклад, такої як 2,6-ди-трет-бутил-4-метилпіридин). Гідратування подвійного зв'язку, який спочатку присутній у R^1 , може бути здійснене під дією газоподібного водню або донора водню (форміату амонію, мурашиної кислоти і подібних до них сполук) у присутності каталізатора на основі металу (переважно, Pd) у придатному розчиннику (нижчі алкілові спирти, ТГФ і т.п.).

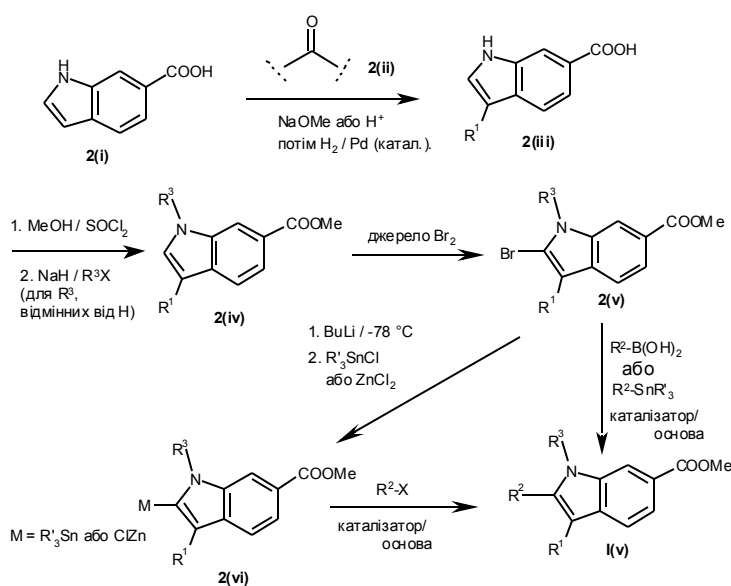
На закінчення, після гідролізу складноефірної захисної групи сполуки I(iv), отримане в результаті

похідне 6-карбоксиіндолу I(v) перетворюють у сполуку формули 1 за допомогою взаємодії з придатним аміном формули H_2N-R^6 . Конденсація 6-індолкарбонової кислоти з амінами H_2N-R^6 може бути здійснена при використанні звичайних реагентів, які використовуються для утворення амідного зв'язку, таких як ТБТУ, ГАТУ, БОФ, BroP, EDAC, DCC, ізобутилхлорформіат і подібні до них сполуки, або за допомогою активації карбоксильної групи перетворенням у відповідний хлорангідрид перед проведенням конденсації з аміном. Після цієї

стадії захисну групу видаляють з одержанням при цьому сполуку формули 1.

Як альтернатива, сполуки формули 1 можуть бути отримані при введенні замісників у попередньо наявне індольне ядро за допомогою наступної модифікації описаної в літературі методики, наприклад, такої, як описано в статті [P. Gharagozloo et al., *Tetrahedron*, 1996, v.52, p.10185 або в статті K. Freter., *J. Org. Chem.*, 1975, v.40, p.2525]. Така методика показана на схемі 2:

Схема 2



При використанні способу, показаного на схемі 2, як вихідну речовину використовують комерційно доступну 6-індолкарбонову кислоту 2(i), яку також можливо одержати відповідно до способу, описаного в статті [S. Kamiya et al., *Chem. Pharm. Bull.*, 1995, v.43, p.1692]. Індол 2(i) взаємодіє з кетоном 2(ii) в умовах реакції альдольного типу з використанням кислоти або основи. Придатні умови для проведення такої конденсації включають використання сильних основ, таких як гідроксиди лужних металів, алкоксиди і гідриди в середовищі розчинників, таких, як нижчі алкілові (MeOH, EtOH, трет-БуОН і т.п.), ТГФ, діоксан, ДМФ, ДМСО, ДМА і подібні до них розчинники при температурі реакції, яка змінюється від -20°C до 120°C. Як альтернатива, конденсацію можливо проводити в кислотних умовах з використанням органічних або мінеральних кислот, або тих і інших. Придатні умови включають використання суміші АсОН і водного розчину фосфорної кислоти при температурі, яка змінюється від 15°C до 120°C.

Після введення захисту для карбоксильної групи у вигляді складноефірної групи (звичайно з нижчим алкілом) відомими методами, індольний атом азоту може бути проалкілований із введенням радикала R³, якщо це необхідно. Умови реакції алкілювання атома похідного індолу добре відомі фахівцям у даній галузі техніки і включають використання сильних основ, таких як гідриди лу-

жних металів, гідроксиди, амідні, алкоксиди й алкілпохідні металів, у придатному розчиннику (наприклад, такому як ТГФ, діоксан, ДМЕ, ДМФ, ДМСО, спирти і подібні до них розчинники) при температурі, яка змінюється від -78 до 140°C. Для алкілювання індольного аніона використовують електрофільну форму R³. Приклади таких електрофілів включають йодиди, броміди, хлориди і складні ефіри -сульфонати (мезилат, тозилат, брозилат або трифлат).

Галогенування (звичайно бромовання, але також і йодування) 2-положення індолу 2(iv) дозволяє одержати сполуку 2(v). Придатні галогенувальні агенти включають, наприклад, елементарний бром, N-бромсукцинімід, трибромід піридину, дибромгідантоїн і відповідні йодпохідні. Придатні розчинники для проведення такої реакції інертні по відношенню до реакційноздатних галогенувальних агентів і включають, наприклад, вуглеводні, хлоровані вуглеводні (ДХМ, CCl₄, CHCl₃), прості ефіри (ТГФ, ДМЕ, діоксан), оцтову кислоту, етилацетат, IPA і суміші цих розчинників. Температура реакції змінюється від -40°C до 100°C. Обраний спосіб проведення бромовання індолів, показаний на схемі 2, описаний у статті [L. Chu., *Tet. Lett.*, 1997, v.38, p.3871].

Похідні 2-броміндолу 2(v) можуть бути безпосередньо перетворені в повністю заміщені ключові похідні I(v) за допомогою реакції крос-сполучення з

арил- або гетероарилпохідними боронових кислот, складними ефірами боронових кислот або похідними триалкілстананів. Ці боронові або оловоорганічні реагенти комерційно доступні або можуть бути отримані відповідно до загальноприйнятих методик, описаних в літературі. Крос-сполучення з органобороновими реагентами може бути проведено з використанням яких-небудь варіантів реакції Сузукі - реакції крос-сполучення, про яку повідомлялося в літературі. Ця реакція, як правило, включає використання каталізатора на основі перехідного металу (звичайно Pd^0), триарил- або тригетероарилфосфінових лігандів, добавки, наприклад, такої як неорганічний хлорид (наприклад, LiCl), і основи (звичайно, водного розчину неорганічної основи, такої як карбонат або фосфат натрію або калію). Реакцію звичайно проводять у спиртовому розчиннику (EtOH), ДМЕ, толуолі, ТГФ і подібних розчинниках при температурі, яка змінюється від 25°C до 140°C .

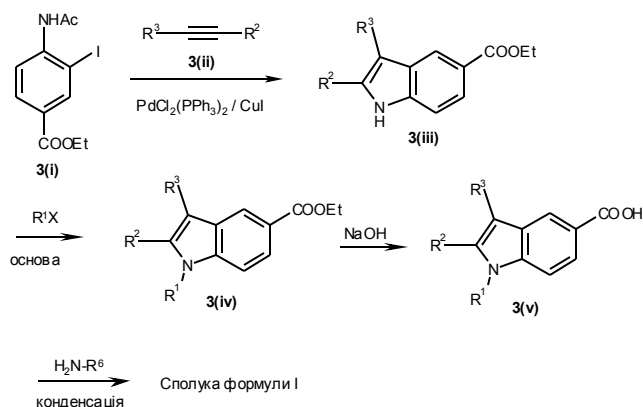
Крос-сполучення з олововмісними реагентами може проводитися за допомогою яких-небудь варіантів реакції Штіле (Stille) - реакції крос-сполучення, про яку повідомлялося в літературі. Для проведення цієї реакції звичайно використовують каталізатор на основі перехідного металу (звичайно Pd^0), триарильні або тригетероарильні фосфінові ліганди, і добавки, наприклад, такі як неорганічний хлорид (наприклад, LiCl) або йодид (наприклад, CuI). Придатні розчинники для проведення цієї реакції включають толуол, ДМФ, ТГФ, ДМЕ і подібні до них розчинники при температурі, яка змінюється від 25°C до 140°C . Проміжну спо-

луку I(v) потім перетворюють у сполуку формули 1, як показано на схемі 1.

Як альтернатива, похідне 2-броміндолу 2(v) може бути піддано трансметалуванню під дією оловоорганічних реагентів (або цинкорганічних реагентів) і використано в реакції крос-конденсації за Штіле в умовах, описаних вище. У цьому випадку для введення R^2 використовують ароматичні і гетероароматичні галогеніди (хлориди, броміди, йодиди) або трифлати. Перетворення похідних 2-броміндолу 2(v) у відповідну оловоорганічну сполуку 2(vi) проводять за допомогою первинного обміну галоген-метал при низькій температурі (звичайно від -78°C до -30°C) з використанням алкіллітієвого реагенту (наприклад, n-BuLi або трет- BuLi) або з використанням металевого літію. Нестійку 2-літійіндоліну сполуку потім стабілізують взаємодією з галогенідом триалкілолова (наприклад, таким як $\text{n-Bu}_3\text{SnCl}$ або Me_3SnCl). Як альтернатива, літійіндоліна проміжна сполука може бути стабілізована взаємодією з хлоридом цинку з утворенням при цьому відповідного органіцинкату, який також може вступати в реакцію крос-сполучення, яка каталізується перехідними металами, з ароматичними або гетероароматичними галогенідами або трифлатами, яка описана, наприклад, у статті [M. Rowley, J. Med. Chem., 2001, v.44, p.1603].

Даний винахід також стосується сполуки формули 1, у якій карбоксильна група знаходиться в 5-положенні індоліної системи. Синтез таких сполук ґрунтується на використанні, з необхідними модифікаціями, відомих з літератури методик і показаний на схемі 3:

Схема 3



При здійсненні способу синтезу, показаного на схемі 3, етил-4-ацетамідо-3-йодобензоат 3 (i) вступає в реакцію крос-сполучення, яка каталізується металами, з алкіном 3(ii) з утворенням при цьому 2,3-дизаміщеного-5-індолкарбоксилату 3(iii) відповідно до адаптованого варіанта методики, описаної в статті [A. Bedeschi et al., Tet. Lett. 1997, v.38, p.2307]. Похідне індолу 3(iii) потім алкілюють по атому азоту, використовуючи електрофільні групи R^1 (галогеніди, складні ефіри - сульфони), під дією основ, таких як гідроксиди лужних металів, фториди, гідриди амідів, алкіллітії, фосфорв-

місні основи і подібні до них сполуки, з одержанням при цьому сполуки 3(iv). Придатні розчинники для проведення такого алкілювання включають ДМФ, DMA, ДМСО, MeCN, ТГФ, діоксан, ДМЕ і подібні до них основи. Після омилення складноєфірної групи лужним розчином отримане похідне 5-індолкарбонової кислоти 3(v) піддають взаємодії з $\text{H}_2\text{N-R}^6$, застосовуючи звичайні реагенти, які використовують для утворення амідного зв'язку, як описано вище (схема 1), з одержанням при цьому сполуки формули I.

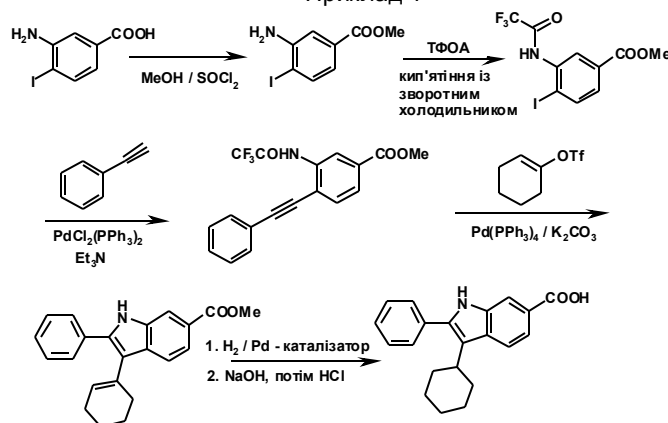
Приклади

Даний винахід більш докладно проілюстрований представленими нижче прикладами, які не обмежують обсяг винаходу. Усі реакції проводять в атмосфері азоту або аргону. Значення температури вказані в градусах Цельсія. Експрес-хроматографію здійснюють на силікагелі. Процентні значення або співвідношення для розчинів належать до співвідношення об'єму до об'єму, якщо не вказано інше. Аналізи методом мас-спектроскопії виконані з використанням мас-спектроскопії з електроспреем. Скорочення і позначення, які використовуються в тексті заявки, включають наступні:

ДІЕА: діізопропілетиламін;
ДМАП: 4-(диметиламіно)піридин;
ДМСО: диметилсульфоксид;
ДМФ: N,N-диметилформамід;
Et: етил;
EtOAc: етилацетат;
Et₂O: діетиловий ефір;
РХВР: рідинна хроматографія високого розділення;
Pr: ізопропіл;
Me: метил;
MeOH: метанол;
MeCN: ацетонітрил;
Ph: феніл;
ТБЕ: трис-борат-ЕДТА;
ТБТУ: 2-(1H-бензотриазол-1-іл)-N,N,N',N'-тетраметилуроній тетрафторборат;
ТФО: трифтороцтова кислота;
ТФОА: ангідрид трифтороцтової кислоти;
ТГФ: тетрагідрофуран;
МС (ES): мас-спектроскопія з електроспреем;

БУЕ: бляшкоутворюючі одиниці;
ДЕПК: діетилпірокарбонат;
ДТТ: дитіотреїтол;
ЕДТА: етилендіамінтетраацетат;
ГАТУ: O-(7-азабензотриазол-1-іл)-N,N,N',N'-тетраметилуроній гексафторфосфат;
БОФ: бензотриазол-1-ілокси-трис(диметиламіно)фосфоній гексафторфосфат;
EDAC: див. ЕДК;
ДЦК: 1,3-дициклогексилкарбодімід;
ГОБТ: 1-гідроксибензотриазол;
ES⁺: електроспрей (позитивна іонізація);
ES⁻: електроспрей (негативна іонізація);
ДХМ: дихлорметан;
ТБМЕ: трет-бутилметиловий простий ефір;
ТШХ: тонкошарова хроматографія;
AcOH: оцтова кислота;
EtOH: етанол;
ДБУ: 1,8-діазабіцикло[5.4.0]ундер-7-ен;
ВОС: трет-бутоксикарбоніл;
Cbz: карбобензилокси карбоніл;
iPrOH: ізопропанол;
N-MP: N-метилпіролідон;
ЕДК: 1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодімід гідрохлорид;
RNAsin: інгібітор рибонуклеази, які випускаються фірмою «Promega Corporation»;
Трис: 2-аміно-2-гідроксиметил-1,3-пропандіол;
UMF: уридину 5'-монофосфат;
UTP: уридину 5'-трифосфат;
ІПА: ізопропілацетат;
Приклади 1-22 ілюструють способи синтезу найбільш типових сполук згідно із даним винаходом.

Приклад 1



Метиловий ефір 3-аміно-4-йодобензойної кислоти

3-Аміно-4-йодобензойну кислоту (13,35г, 50,8ммоль) додають до MeOH (150мл), потім додають SOCl₂ (4,8мл, 65,8ммоль, 1,3 еквіваленти). Отриману суміш кип'яють із зворотним холодильником протягом 3год., і потім леткі речовини видаляють при зниженому тиску. Отриманий залишок три рази піддають упарюванню з MeOH і висушують у вакуумі (15,23г).

Метиловий ефір 3-трифторацетамідо-4-йодобензойної кислоти

Похідне аніліну, отримане, як описано вище (14,53г, 52ммоль), розчиняють у ДХМ (200мл) і

додають ТФОА (15мл, 104ммоль). Темно-фіолетовий розчин кип'яють із зворотним холодильником протягом ночі. Леткі речовини видаляють при зниженому тиску, і отриманий залишок пропускають через невеликий шар силікагелю, використовуючи як елюент ДХМ. Цільовий продукт одержують у вигляді рожевої твердої речовини (13,81г).

Метиловий ефір 4-фенілетиніл-3-(2,2,2-трифторетаноламіно)бензойної кислоти

Йодид, отриманий, як описано вище (0,742г, 2ммоль), фенілацетилен (0,37мл, 3,9ммоль, 1,7 еквіваленти) і Et₃N (6мл) поміщають у суху колбу в атмосфері аргону. Додають PdCl₂(PPh₃)₂ (0,241г, 0,3ммоль), і отриману суміш перемішують при кім-

натній температурі до завершення реакції, яке визначають аналізом методом РХВР (~5 год.). Реакційну суміш при зниженому тиску концентрують до половини об'єму і розбавляють водою (80 мл). Суміш екстрагують, використовуючи EtOAc (3×100 мл), і після цього органічний екстракт промивають 5%-ним розчином HCl (100 мл), потім (100 мл) і насиченим розчином солі (40 мл). Після висушування над MgSO₄ отриманий залишок очищають експрес-хроматографією, використовуючи як елюент 20% EtOAc - гексан і одержуючи при цьому цільовий алкін - продукт крос-сполучення у вигляді жовто-коричневої твердої речовини (0,442 г).

Метилловий ефір 3-(циклогексеніл)-2-феніліндол-6-карбонової кислоти у висушену при сильному розжарюванні колбу поміщають тонкоподрібнений безводний K₂CO₃ (0,153 г, 1,1 ммоль) і алкінове похідне (0,390 г, 1,1 ммоль), отримане, як описано вище. Додають сухий ДМФ (4 мл) і дегазують суспензію, пропускаючи аргон. Додають трифлат енолу, отриманий з циклогексанону (0,802 г, 3,3 ммоль, 3 еквіваленти), цю сполуку одержують відповідно до методики, описаної в статті [A.G. Martinez, M. Hanack et al. J. Heterocyclic Chem., 1988, v.25, p.1237], або використовуючи еквівалентні методи, описані в літературі, потім додають Pd(PPh₃)₄ (0,086 г, 0,07 ммоль), і перемішують отриману суміш протягом 8 год. при кімнатній температурі. ДМФ видаляють під вакуумом, а

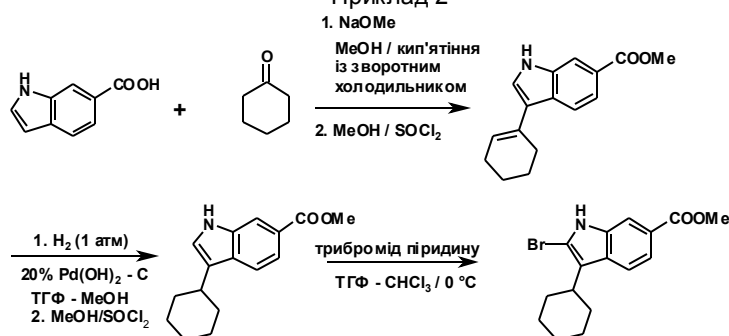
отриманий залишок очищають методом експрес-хроматографії, використовуючи як елюент ДХМ (0,260 г). Метилловий ефір 3-циклогексил-2-феніліндол-6-карбонової кислоти Сполуку, отриману як описано вище, гідрують звичайним способом (газоподібний H₂, 1 атм.) над 20%-ним Pd(OH)₂, використовуючи MeOH як розчинник. Цільовий циклогексаніндол виділяють, відфільтрувавши каталізатор.

3-Циклогексил-2-феніліндол-6-карбонова кислота

Складний метилловий ефір, отриманий, як описано вище (0,154 г, 0,15 ммоль), кип'ятять із зворотним холодильником протягом ночі в суміші MeOH (10 мл) і 2Н розчину NaOH (6 мл), доти, поки не відбудеться повністю гідроліз, закінчення якого визначають методом РХВР. Після охолодження до кімнатної температури додають 2 Н розчин HCl (5 мл), а потім AcOH до pH7. MeOH видаляють при зниженому тиску, додають воду (50 мл), і екстрагують продукт, використовуючи EtOAc. Екстракт промивають водою і насиченим розчином солі, і висушують (MgSO₄). Після видалення летких компонентів при зниженому тиску одержують вказану в назві індолкарбонову кислоту у вигляді світло-жовтого гарячої твердої речовини (0,149 г).

За тією ж самою методикою, але використовуючи 2-етинілпіридин замість феніл ацетилену, одержують 3-циклогексан-2-(2-піридил)індол-6-карбонову кислоту.

Приклад 2



3-Циклогексеніл-6-індолкарбонова кислота

Круглодонну колбу об'ємом 12 л обладнують дефлегматором і механічною мішалкою, і цю систему продувають газоподібним азотом. У колбу поміщають 6-індолкарбонову кислоту (300,00 г, 1,86 ммоль, 3 еквіваленти), а потім MeOH (5,5 л). Після перемішування протягом 10 хв. при кімнатній температурі додають циклогексанон (579 мл, 5,58 ммоль). Потім порціями протягом 10 хв. додають метоксид натрію в метанолі (25% мас/мас, 2,6 л, 11,37 ммоль, 6,1 еквіваленти). Після цього суміш кип'ятять із зворотним холодильником протягом 48 год. Після охолодження до кімнатної температури додають воду (4 л) і видаляють метанол при зниженому тиску. Водну фазу, що залишилася, підкисляють до pH1 концентрованою HCl (-1,2 л). Отриманий жовтуватий осад збирають фільтрацією, промивають водою і висушують під вакуумом при 50°C. Цільове циклогексанове похідне одержують у вигляді сірувато-жовтої твердої речовини (451,0 г, вихід 100%).

3-Циклогексил-6-індолкарбонова кислота

Ненасичене похідне, отримане, як описано вище, гідрують протягом 20 год. при тиску газоподібного водню 55 фунт/кв. дюйм над 20%-ним Pd(OH)₂/C (10,25 г), використовуючи як розчинник суміш ТГФ-MeOH (2,5 л) у співвідношенні 1:1. Після того, як каталізатор відфільтрований, леткі речовини видаляють при зниженому тиску, і залишок розтирають з гексаном. Жовтувато-коричневу тверду речовину збирають фільтрацією, промивають гексаном і висушують під вакуумом (356,4 г, вихід 78%).

Метилловий ефір 3-циклогексил-6-індолкарбонової кислоти Тригорлу колбу об'ємом 5 л обладнують зворотним холодильником і механічною мішалкою, і продувають систему газоподібним азотом. Індолкарбонову кислоту, отриману, як описано вище (300,00 г, 1,233 ммоль), поміщають у колбу і суспендують у MeOH (2 л). Додають по краплях тіонілхлорид (5 мл, 0,0685 ммоль, 0,05 еквіваленти), і кип'ятять суміш із зворотним холодильником.

ком протягом 48 год. Леткі речовини видаляють при зниженому тиску, а залишок розтирають з гексаном, для того щоб одержати жовтувато-коричневу тверду речовину, яку промивають гексаном і висушують під вакуумом (279,6 г, вихід 88%).

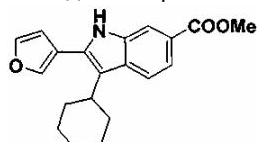
Метилловий ефір 2-бromo-3-циклогексил-6-індолкарбонової кислоти. Застосовуючи методику, описану в статті [L. Chu, Tet. Lett., 1997, v.38, p.3871], розчиняють метилловий ефір 3-циклогексил-6-індолкарбонової кислоти (4,65 г, 18,07 ммоль) у суміші ТГФ (80 мл) і CHCl_3 (80 мл). Отриманий розчин охолоджують на бані з льодом і додають пербромід піридиніброміду (трибромід піридину, 7,22 г, 22,6 ммоль, 1,25 еквіваленти). За даними ТШХ, після перемішування протягом 1,5 год. при 0°C реакція повністю завершується. Реакційну суміш розбавляють, використовуючи CHCl_3 (200 мл), промивають 1М розчином NaHSO_3 (2×50 мл), насиченим водним розчином NaHCO_3 (2×50 мл) і насиченим розчином солі (50 мл). Після висушування над Na_2SO_4 розчинник видаляють при зниженому тиску, а залишок перекристалізують із суміші ТБМЕ - гексан. Цільове 2-броміндолне похідне збирають фільтрацією, промивають гексаном і висушують (3,45 г). Після упарювання маточної рідини одержують червону тверду речовину, яку очищують експрес-хроматографією, використовуючи 15% EtOAc у гексані й одержуючи при цьому додатково 3,62 г чистої сполуки. Сумарний вихід становить 5,17 г (вихід 85%).

Приклад 3

Загальна методика проведення реакції Сузукі - крос-сполучення арилзаміщених і гетероарилзаміщених боронових кислот з 2-броміндолними похідними

Крос-сполучення ароматичних/гетероароматичних боронових кислот або складноефірних похідних з 2-броміндолами, такими, наприклад, як описана в прикладі 2 сполука, може бути здійснене при використанні будь-яких модифікацій звичайної реакції Сузукі, яка каталізується металами - реакції крос-сполучення, яка описана в літературі і добре відома фахівцям у даній галузі техніки. Наведені далі приклади служать для ілюстрації таких способів і не обмежують обсяг даного винаходу.

Метилловий ефір 3-циклогексил-2-фуран-3-іл-1Н-індол-6-карбонової кислоти

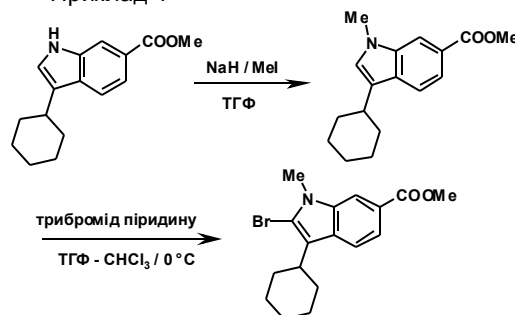


2-Броміндол (8,92 г, 26,5 ммоль), отриманий відповідно до прикладу 2, 3-фуранборонову кислоту [B.P. Roques et al. J. Heterocycl. Chem., 1975, v.12, p.195]; 4,45 г, 39,79 ммоль, 1,5 еквіваленти) і LiCl (2,25 г, 53 ммоль, 2 еквіваленти) розчиняють у суміші EtOH (100 мл) і толуолу (100 мл).

Додають 1М водний розчин Na_2CO_3 (66 мл, 66 ммоль) і дегазують суміш аргонном протягом 45 хв. Додають $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (3,06 г, 2,65 ммоль, 0,1 еквівалента), і перемішують суміш протягом ночі

при 75-85°C в атмосфері аргону. Леткі речовини видаляють при зниженому тиску, а залишок повторно розчиняють у EtOAc (500 мл). Розчин промивають водою, насиченим NaHCO_3 (100 мл) і насиченим розчином солі (100 мл). Після висушування над сумішшю MgSO_4 і знебарвлення активованим вугіллям суміш фільтрують і концентрують при зниженому тиску. Маслянистий залишок розтирають із сумішшю ТБМЕ (20 мл) і гексану (40 мл), охолоджують на льоді і збирають фільтрацією тверду речовину, яка випала в осад, яку промивають холодним 25%-ним ТБМЕ в гексані і висушують (3,09 г). Фільтрат і промивну рідину, отриману при вказаній вище фільтрації, об'єднують, концентрують і очищують експрес-хроматографією, використовуючи 10-25% EtOAc у гексані й одержуючи при цьому додатково 4,36 г продукту. Сумарний вихід 2-(3-фурил)індолу, отриманого відповідно до прикладу 3, становить 8,25 г.

Приклад 4



Метилловий ефір 3-циклогексил-1-метил-6-індолкарбонової кислоти

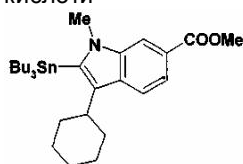
Метилловий ефір 3-циклогексил-6-індолкарбонової кислоти, отриманий відповідно до прикладу 2 (150,00 г, 0,583 ммоль), поміщають у тригорлу колбу об'ємом 3 л, обладнану механічною мішалкою і продувають газоподібним азотом. Додають ДМФ (1 л), після чого розчин охолоджують на бані з льодом. Додають невеликими порціями (15 хв.) NaH (60%-на дисперсія в маслі, 30,35 г, 0,759 ммоль, 1,3 еквіваленти) і перемішують суміш протягом 1 год. на холоді. Додають невеликими порціями йодметан (54,5 мл, 0,876 ммоль, 1,5 еквіваленти), підтримуючи температуру всередині колби між 5 і 10°C. Потім реакційну суміш перемішують протягом ночі при кімнатній температурі. Реакцію зупиняють, виливаючи реакційну суміш у льодяну воду (3 л), у результаті чого утворюється осад кремового кольору. Отриману речовину збирають фільтрацією, промивають водою і висушують у вакуумі при 45°C (137,3 г, вихід 86%).

Метилловий ефір 2-бromo-3-циклогексил-1-метил-6-індолкарбонової кислоти

Похідне 1-метиліндолу, отримане, як описано вище (136,40 г, 0,503 ммоль), поміщають у тригорлу колбу об'ємом 5 л, обладнану механічною мішалкою, і продувають газоподібним азотом. Додають невеликими порціями CHCl_3 (750 мл) і ТГФ (750 мл), і охолоджують розчин до 0°C. Потім додають трибромід піридину (пербромід піридиніброміду, 185,13 г, 0,579 ммоль, 1,15 еквіваленти) і перемішують суміш протягом 1 год. при 0°C. Розчинник видаляють при зниженому тиску при кімнатній тем-

пературі, а залишок розчиняють у EtOAc (3л). Розчин промивають водою і насиченим розчином солі, висушують (знебарвлення активованим вугіллям/MgSO₄) і концентрують при зниженому тиску. Залишок суспендують у ТБМЕ і нагрівають до 50°C. Суспензію витримують протягом ночі в холодильнику, і отриманий кристалічний продукт кремового кольору збирають фільтрацією. Цей продукт промивають, використовуючи ТБМЕ, і висушують у вакуумі (134,3г, вихід 76%).

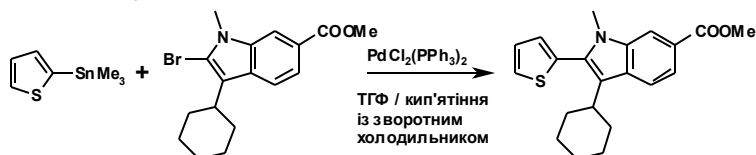
Приклад 5
Метилловий ефір 3-циклогексил-1-метил-2-пиридин-2-іл-1Н-індол-6-карбонової кислоти



Похідне броміндолу, отримане відповідно до прикладу 4 (2,70г, 7,71ммоль) розчиняють у сухому ТГФ (40мл) і охолоджують розчин до -78°C в атмосфері аргону. Додають по краплях протягом 15хв. розчин Н-BuLi у гексані (1,4М, 6,90мл, 9,64ммоль, 1,25 еквіваленти) і продовжують перемішування при низькій температурі протягом 75хв. До отриманої суспензії додають протягом 5хв. Н-Bu₃SnCl (2,93мл, 10,8ммоль, 1,4 еквіваленти). Суспендована речовина розчиняється, і отриманий розчин перемішують протягом 1год. при -78°C Реакційну суміш нагрівають до кімнатної температури і потім видаляють ТГФ при зниженому тиску. Залишок розчиняють у ТБМЕ (150мл), промивають, використовуючи суміш - насичений розчин сіль-вода в співвідношенні 1:1, висушують над MgSO₄. Отриману сполуку очищають хроматографією на силікагелі, який попередньо деактивують змішуванням з 5%-ним розчином Et₃N у гексані. Цей же розчинник використовують як елюент для хроматографії. Вказаний у заголовку станан виділяють у вигляді жовтої маслянистої речовини (3,42г, вихід 79%).

Приклад 6

Загальна методика проведення реакції Штіле - крос-сполучення 2-стананіндолу, отриманого від-

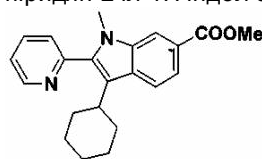


Похідне 2-броміндолу, отримане відповідно до прикладу 4 (0,150г, 0,428ммоль), і 2-триметилстанілтіофен [S.F. Thames et al. J. Organometal. Chem., 1972, v.38, p.29]; 0,150г, 0,61ммоль, 1,4 еквіваленти) розчиняють у сухому ТГФ (7мл) у герметично закритій пробірці, і дегазують розчин, пропускаючи потік аргону протягом 30хв. Додають Pd(Cl)₂(PPh₃)₂ (0,018г, 0,026ммоль, 0,06 еквіваленти) і герметично закривають пробірку. Отриманий розчин нагрівають до 80°C протягом 40год. Реакційну суміш охолоджують до кімнатної

повідно до прикладу 5, з ароматичними/гетероароматичними галогенідами

Крос-сполучення ароматичних/гетероароматичних галогенідів або псевдогалогенідів (переважно, бромідів, йодидів і трифлатів) з похідним станану, отриманим відповідно до прикладу 5, може бути здійснене при використанні яких-небудь модифікацій загальноприйнятої реакції Штіле, яка каталізується металом - реакції крос-сполучення, як описано в літературі. Наведені нижче приклади служать для ілюстрації такого способу синтезу.

Метилловий ефір 3-циклогексил-1-метил-2-пиридин-2-іл-1Н-індол-6-карбонової кислоти



Похідне станану, отримане відповідно до прикладу 5 (3,42г, 6,1ммоль), розчиняють у ДМФ (10мл) і додають CuI (0,116г, 0,61ммоль, 0,1 еквівалента), LiCl (0,517г, 12,21ммоль, 2 еквіваленти), трифенілфосфін (0,320г, 1,22ммоль, 0,2 еквіваленти) і 2-бромпіридин (0,757мл, 7,94ммоль, 1,3 еквіваленти). Розчин дегазують потоком аргону (30хв.) і додають Pd(PPh₃)₄ (0,352г, 0,31ммоль, 0,05 еквіваленти). Після пропускання азоту додатково протягом 10хв. розчин нагрівають і перемішують в атмосфері аргону при 100°C протягом ночі. Потім ДМФ видаляють під вакуумом, а залишок розчиняють у EtOAc (150мл). Розчин промивають 1Н розчином NaOH (25мл) і насиченим розчином солі (25мл), потім висушують над MgSO₄. Розчинник видаляють при зниженому тиску, а залишок очищають експрес-хроматографією, використовуючи як елюент CHCl₃, а потім 5-10% EtOAc у CHCl₃ (1,516г, вихід 71%).

Приклад 7

Загальна методика проведення реакції Штіле - крос-сполучення 2-броміндолів з арил- або гетероарилстананами

Метилловий ефір 3-циклогексил-1-метил-2-пиридин-2-іл-1Н-індол-6-карбонової кислоти

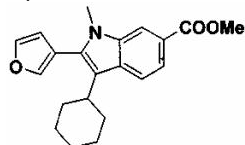
ної температури, додають EtOAc (10мл) і фільтрують суспензію. Після упарювання розчинника залишок повторно обробляють у вказаних вище умовах реакції додатково протягом 20год., використовуючи свіжі 2-станілтіофен (0,150г, 0,61ммоль) і каталізатор (0,020г). Після охолодження до кімнатної температури, відфільтрувавши тверді речовини, розчинник упарюють, а залишок очищають експрес-хроматографією, використовуючи як елюент 15-100% CHCl₃ у гексані (0,133г, вихід 88%).

Така ж методика може бути використана для взаємодії стананпохідного з 2-броміндолом, отриманим відповідно до прикладу 2.

Приклад 8

Загальна методика проведення N-алкілювання 2-арил і 2-гетероарил-6-індолкарбоксилатів

Метилловий ефір 3-циклогексил-1-метил-2-піридин-2-іл-1H-індол-6-карбонової кислоти



NaH (60%-на дисперсія в маслі, 0,186г, 4,64ммоль, 1,5 еквіваленти) промивають гексаном (20мл) для того, щоб видалити масло, і потім повторно суспендують у ДМФ (5мл). Після охолодження до 0°C на бані з льодом похідне індолу (1,000г, 3,09ммоль), отримане відповідно до прикладу 3, додають по краплях у вигляді розчину в ДМФ (3мл+2мл для промивання). Після перемішування протягом 15хв. додають в один прийом йодметан (0,385мл, 6,18ммоль, 2 еквіваленти) і перемішують суміш протягом 2год. на холоді і додатково 2год. при кімнатній температурі. Потім реакцію зупиняють додаванням 1Н розчину HCl (1мл), після чого розбавляють, використовуючи ТБМЕ (100мл). Розчин промивають 1Н розчином HCl (25мл) і висушують (MgSO₄). Після видалення летких компонентів при зниженому тиску отриманий залишок очищують методом експресхроматографії, використовуючи як елюент 5-10% EtOAc у гексані, одержуючи при цьому вказану в

заголовку сполуку у вигляді білої твердої речовини (0,903г, вихід 86%).

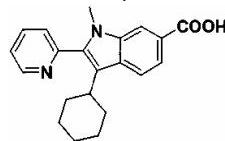
Інші N-алкіліндолні похідні, які входять в обсяг даного винаходу, можуть бути отримані при використанні аналогічної методики з придатних електрофілів (наприклад, таких як EtI, ізо-PrI, ізо-BuI, BnBr).

Приклад 9

Загальна методика проведення омилнення 6-індолкарбоксилатів з одержанням відповідних вілних карбонових кислот

Цю методику використовують як для індолзаміщених, так і для N-метиліндолзаміщених карбоксилатів.

3-Циклогексил-1-метил-2-піридин-2-іл-1H-індол-6-карбонова кислота

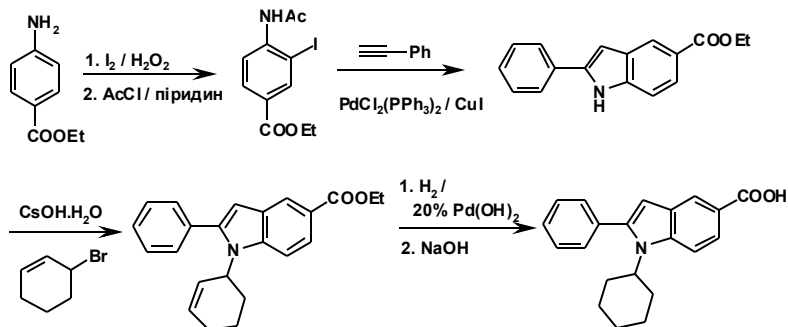


6-Індолкарбоксилат, отриманий відповідно до прикладу 6 (1,517г, 4,35ммоль), розчиняють у ДМСО (8мл) і додають 5Н розчин NaOH (4,4мл).

Суміш перемішують при 50°C протягом 30хв. Після цього розчин охолоджують до кімнатної температури і додають по краплях у воду (15мл). Домішки чорного кольору, які не розчинилися, видаляють фільтруванням, потім до фільтрату додають по краплях AcOH (2мл). Утворений білий осад збирають фільтрацією, промивають водою і висушують (1,37г, вихід 94%).

Приклад 10

1-Циклогексил-2-феніл-1H-індол-5-карбонова кислота



Етиловий ефір 4-аміно-3-йодобензойної кислоти

Етиловий ефір 4-амінобензойної кислоти (15,00г, 91ммоль) і йод (11,80г, 46,5ммоль) змішують з водою (80мл) і хлорбензолом (4,60г, 41ммоль). Суміш перемішують протягом 30хв., у цей час температура поступово підвищується до 90°C. Додають протягом 10год. при 90°C перексид водню (30%-ний, 50мл). Після перемішування при вказаній температурі додатково протягом 6год. суміш охолоджують, і розчин відокремлюють декантуванням від твердої речовини, яка залишилася. Тверду речовину розчиняють у ДХМ і послідовно промивають розчином тіосульфату натрію і насиченим розчином солі. Після висушування (MgSO₄) розчинник видаляють при зниженому тиску, а

отриману коричневу тверду речовину розтирають з гексаном для того, щоб видалити дийодовані побічні продукти. Цільову сполуку одержують у вигляді коричневої твердої речовини (22,85г, вихід 86%).

Етиловий ефір 4-ацетамідо-3-йодобензойної кислоти

Похідне аніліну (1,00г, 3,44ммоль), отримане, як описано вище, розчиняють у піридині (5мл) і охолоджують розчин на льоді. Додають по краплях AcCl (0,32мл, 4,47ммоль, 1,3 еквіваленти), потім суміш перемішують протягом 1год. при 0°C і протягом 2год. при кімнатній температурі. Потім реакційну суміш розбавляють 1Н розчином HCl і екстрагують продукт, використовуючи ТБМЕ (100мл). Органічну фазу промивають 1Н розчином HCl

(50мл), висушують (MgSO_4) і концентрують, одержуючи при цьому цільову сполуку у вигляді твердої речовини рудувато-коричневого кольору (1,121г, вихід 97%).

Етиловий ефір 2-феніл-індол-5-карбонової кислоти

Відповідно до методики, описаної в статті [A. Bedeschi et al. Tet. Lett., 1997, v.38, 2307], ацетанілідне похідне, отримане, як описано вище (0,900г, 2,7ммоль), піддають взаємодії з фенілацетиленом (0,385мл, 3,5ммоль, 1,3 еквіваленти) у присутності $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (10 мольних %) і CuI (10 мольних %) у суміші діоксану (5мл) і тетраметилгуанідину (5мл). Цільовий 2-феніліндол (0,589г, вихід 82%) виділяють у вигляді твердої жовтої речовини після проведення експрес-хроматографії з використанням 15%-ного EtOAc у гексані.

Етиловий ефір 1-циклогекс-1-еніл-2-феніл-1H-індол-5-карбонової кислоти

2-Феніліндолське похідне, отримане, як описано вище (0,265г, 1,0ммоль), розчиняють у ДМФ (2мл) і додають моногідрат гідрохлориду цезію (0,208г, 1,2ммоль, 1,2 еквіваленти). Отриманий розчин охолоджують на бані з льодом і додають по краплях (5хв.) 3-бromoциклогексен (0,193г, 1,2ммоль, 1,2 еквіваленти) у вигляді розчину в ДМФ (1мл). Суміш перемішують протягом 30хв. при 0°C . Реакційну суміш розбавляють водою (25мл), екстрагують, використовуючи Et_2O

(2×50мл), отриманий екстракт висушують над MgSO_4 . Розчинник упарюють при зниженому тиску, одержуючи при цьому білу спінену речовину (0,095г), яку використовують на наступній стадії без додаткового очищення.

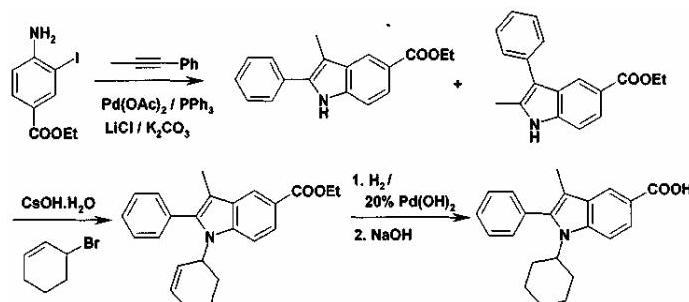
1-Циклогексил-2-феніл-1H-індол-5-карбонова кислота

Індол, отриманий, як описано вище, без проведення очищення, гідрують звичайним способом (газоподібний H_2 , 1атм.) у EtOH над 20%-ним $\text{Pd}(\text{OH})_2$ на вуглєці протягом 20год. при кімнатній температурі. Після того, як каталізатор відфільтрований, EtOH видаляють при зниженому тиску.

Залишок розчиняють у суміші MeOH (1мл) і DMCO (1мл) і додають 5Н розчин NaOH (0,5мл). Суміш перемішують протягом ночі при 50°C . Реакційну суміш охолоджують і додають воду (10мл). Після підкислення 1Н розчином HCl , продукт піддають екстракції в Et_2O (70мл), і висушують розчин (Na_2SO_4). Після упарювання розчинника одержують залишок зеленого кольору, який складається із суміші (85мг) цільової 1-циклогексил-2-феніліндол-5-карбонової кислоти і 1,3-дициклогексил-2-феніліндол-5-карбонової кислоти в співвідношенні 2:1.

Приклад 11

1-Циклогексил-3-метил-2-феніл-1H-індол-5-карбонова кислота



Етиловий ефір 2-феніл-3-метил-індол-5-карбонової кислоти

Застосовуючи методику, описану в статті: [H.-C. Zhang, Tet. Lett., 1997, v.38, p.2439], етиловий ефір 4-аміно-3-йodobензойної кислоти (отриманий відповідно до прикладу 10, 0,500г, 1,72ммоль) розчиняють у ДМФ (5мл) і додають LiCl (0,073г, 1,72ммоль, 1 еквіваленти), PPh_3 (0,090г, 0,34ммоль, 0,2 еквіваленти), K_2CO_3 (1,188г, 8,6ммоль, 5 еквівалентів) і фенілпропін (0,645мл, 5,76ммоль, 3 еквіваленти). Розчин дегазують, пропускаячи аргон протягом 1год., і додають ацетат паладію (0,039г, 0,17ммоль, 0,1 еквівалента). Суміш перемішують при 80°C в атмосфері аргону протягом 20год. Реакційну суміш розбавляють водою (25мл) і екстрагують, використовуючи EtOAc (50мл). Екстракт промивають насиченим розчином солі (3 x 25мл) і висушують (MgSO_4). Концентрування при зниженому тиску й очищення експрес-хроматографією з використанням як елюенту системи 10-15% EtOAc - гексан дозволяє одержати цільовий 2-феніл-3-метиліндол (0,275г, найменш полярний компонент) і 3-феніл-2-

метилзаміщений ізомер (0,109г, більш полярний компонент).

Етиловий ефір 1-(3-циклогексеніл)-3-метил-2-феніліндол-5-карбонової кислоти

Менш полярний ізомер, отриманий як описано вище (0,264г, 0,95ммоль), розчиняють у DMCO (2мл) і додають моногідрат гідроксиду цезію (0,191г, 1,14ммоль, 1,2 еквіваленти), а потім 3-бromoциклогексен (0,183г, 1,14ммоль, 1,2 еквіваленти в 0,7мл DMCO). Отриману суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 30хв. Додають додаткову кількість моногідрату CsOH (0,400г, 2,4 еквіваленти) і 3-бromoциклогексену (0,400г, 2,4 еквіваленти), після чого продовжують перемішування додатково протягом 30хв. Ту ж кількість цих двох реагентів додають ще раз, і після додаткового перемішування протягом 30хв. при кімнатній температурі реакційну суміш розбавляють 1Н розчином HCl (6мл) і водою (20мл). Продукт екстрагують, використовуючи TBME (100мл), висушують (MgSO_4) і після концентрування при зниженому тиску отриманий залишок очищають експрес-хроматографією, використовуючи 5-10%

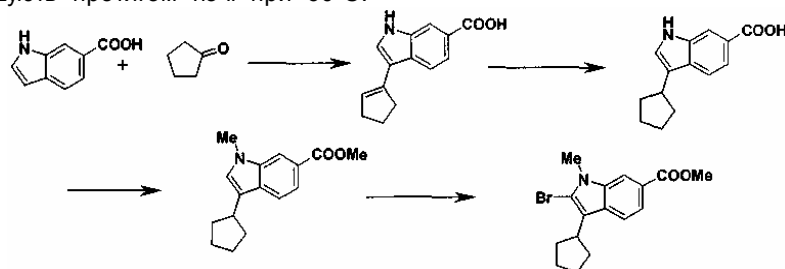
EtOAc у гексані, одержуючи при цьому цільовий N-алкілований індол (0,130г).

Етиловий ефір 1-циклогексил-3-метил-2-феніліндол-5-карбонової кислоти

Ненасичений продукт, отриманий, як описано вище, гідрують (газоподібний H_2 , 1атм.) звичайним способом над 20% $Pd(OH)_2$ у EtOH при кімнатній температурі протягом 3год.

1-Циклогексил-3-метил-2-феніл-1Н-індол-5-карбонова кислота

Гідрований продукт, отриманий, як описано вище, розчиняють у суміші ДМСО (2мл) і MeOH (2мл). Додають 5Н розчин NaOH (0,5мл) і отриману суміш перемішують протягом ночі при 60°C.



У тригорлу колбу об'ємом 3л, обладнану механічною мішалкою, поміщають індол-6-карбонову кислоту (220г, 1,365моль) і гранули КОН (764,45г, 13,65моль, 10 еквівалентів). Додають воду (660мл) і MeOH (660мл) і нагрівають суміш до 75°C. Додають по краплях протягом 18год. цикlopentanон (603,7мл, 6,825моль, 5 еквівалентів), використовуючи помпу. Реакційну суміш нагрівають протягом додаткових 3год. (після чого, за даними РХВР, реакція повністю завершується) і охолоджують до 0°C протягом 1год. Сіль калію, яка випала в осад, збирають фільтруванням, після чого промивають, використовуючи ТБМЕ (2×500мл) для того, щоб видалити продукти автоконденсації цикlopentanону. Отриману коричневу тверду речовину повторно розчиняють у воді (2,5л), після чого промивають розчин, використовуючи ТБМЕ (2×1л). Після підкислення концентрованою HCl (425мл) до pH3 отриманий осад сірувато-жовтого кольору збирають фільтрацією, промивають водою (2×1л) і висушують під вакуумом при 70°C. Маса неочищеного продукту становить 275,9г (88,9% вихід за масою), а гомогенність - 85% (РХВР).

Продукт, отриманий, як описано вище, без проведення очищення (159,56г, 0,70моль), розчиняють у MeOH (750мл) і додають 20%-ний $Pd(OH)_2$ на вуглиці (8,00г). Суміш гідрують в апараті Парра при тиску водню 50фунт/кв. дюйм протягом 18год. Після завершення гідрування каталізатор видаляють фільтруванням через целіт, а розчинник відганяють при зниженому тиску. Отриману коричневу тверду речовину висушують при 70°C під вакуумом протягом 12год. Продукт, без очищення (153,2г) одержують у вигляді коричневої твердої речовини, його гомогенність за даними РХВР становить 77%.

Неочищену 3-циклопентиліндол-6-карбонову кислоту (74,00г, 0,323моль) поміщають у тригорлу колбу об'ємом 3л, обладнану механічною мішалкою і термометром. Систему продувають газоподі-

Після розведення водою (40мл) водну фазу, яка містить продукт, промивають сумішшю Et₂O - гексан у співвідношенні 1:1 (50мл), після чого підкисляють 1Н розчином HCl до pH1. Вивільнену вільну кислоту екстрагують діетиловим ефіром (2×50мл), отриманий екстракт висушують над Na_2SO_4 . Після видалення розчинника при зниженому тиску одержують цільовий індол у вигляді ясно-коричневої твердої речовини (0,074г).

Приклад 12

Метилловий ефір 2-бром-3-циклопентил-1-метил-1Н-індол-6-карбонової кислоти

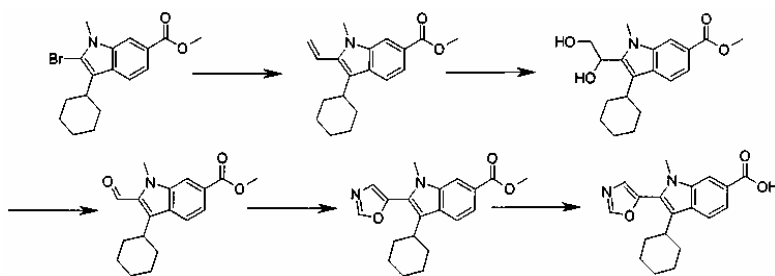
ним азотом і додають безводний ДМФ (740мл). Після розчинення вихідної сполуки додають безводний карбонат натрію (66,91г, 0,484моль, 1,5 еквіваленти) і перемішують суміш протягом 5 хвилин. Додають йодметан (50мл, 0,807моль, 2,5 еквіваленти), потім перемішують суміш протягом 5год., у результаті чого за даними аналізу методом РХВР спостерігається 97%-на конверсія в складний метилловий ефір.

Реакційну суміш охолоджують на бані з льодом і додають невеликими порціями протягом 3хв. гідрид натрію (95%, не містить домішки масла, 10,10г, 0,420моль, 1,3 еквіваленти) (процес екзотермічний: температура всередині колби підвищується від 8°C до 30°C). Після перемішування протягом додаткових 15хв., охолодну баню забирають і продовжують перемішування протягом 1,5год. при кімнатній температурі, після чого подальший перебіг реакції припиняється (за даними РХВР). Додають додаткову кількість NaH (1,55г, 65ммоль, 0,2 еквіваленти) і йод метану (1,0мл, 16ммоль, 0,05 еквіваленти), і після перемішування протягом 15хв. реакція, за даними РХВР, повністю завершується (96% N-метилування).

Реакційну суміш повільно при енергійному перемішуванні (2хв.) виливають у воду (4л) і через 10хв. підкисляють до pH<2 концентрованою HCl (85мл). Суміш перемішують протягом 5хв. для того, щоб завершити перетворення якої-небудь кількості карбонату, що залишилася, і бікарбонату калію в більш розчинний хлорид. Значення pH доводять до ~7,4Н розчином NaOH (40мл), і перемішують суміш протягом ночі при кімнатній температурі. Речовину, яка випала в осад, збирають фільтрацією, промивають водою (600мл) і висушують при 60°C під вакуумом. Продукт, без проведення очищення (79%-на гомогенність за даними РХВР) одержують у вигляді коричневої твердої речовини (72,9г).

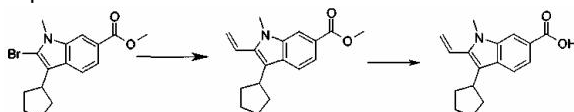
Неочищену речовину, отриману, як описано вище, розтирають з мінімальною кількістю MeOH для того, щоб видалити незначну кількість домішок. Потім тверду речовину збирають фільтрацією і розчиняють у мінімальній кількості гарячого EtOAc. Після охолодження до кімнатної температури додають гексан (5× об'єм) і охолоджують суміш на льоді, потім відфільтровують. Після цього фільтрат упарюють досуха, одержуючи цільовий продукт.

N-метиліндол (10,60г, 41,2ммоль), отриманий, як описано вище, розчиняють у ізопропілацетаті (150мл) і додають ацетат натрію (5,07г, 62ммоль, 1,5 еквіваленти). Охолоджують суспензію на бані з льодом і додають по краплях протягом 2хв. бром (2,217мл, 43,3ммоль, 1,05 еквіваленти). Суспензія блідо-жовтого кольору змінює свій колір на темно-червоний (екзотермічний процес: нагрівання від 5°C до 13°C). Суспензію перемішують протягом 1год. при 0°C. Реакція повністю завершується при додаванні додаткової кількості бром (0,21мл, 4,2ммоль, 0,10 еквівалента), про що свідчать дані аналізу методом РХВР. Після цього реакцію зупиняють додаванням 10%-ного водного розчину сульфату натрію (15мл), а потім води (50мл) і K₂CO₃ (10,6г, 1,8 еквіваленти) для того, щоб нейтралізувати HBr. Органічний шар відокремлюють, промивають 10%-ним водним розчином сульфату натрію і водним розчином K₂CO₃, потім висушують (MgSO₄). Розчинник видаляють при зниженому тиску і піддають залишок спільному упарюванню з ТБМЕ (75мл) з одержанням сірувато-жовтої твердої речовини, яку висушують під вакуумом протягом ночі (13,80г). Неочищену речовину розтирають з киплячим MeOH (80мл) протягом 30хв., охолоджують на льоді і збирають сірувато-жовту тверду речовину фільтруванням. Отриманий продукт висушують при 60°C під вакуумом (10,53г, вихід 76%).



До броміду (1,00г, 2,855ммоль), отриманого відповідно до прикладу 4, у сухому діоксані (10мл) додають вінілтрибутилово (917,8мкл, 3,141ммоль). Розчин дегазують, барботуючи через нього азот протягом 15хв. Потім додають біс(трифенілфосфін)паладій (II) хлорид (101мг, 0,144ммоль) і кип'ятять розчин із зворотним холодильником протягом 7 годин. Реакційну суміш розбавляють етиловим ефіром і послідовно промивають водою і насиченим розчином солі. Після звичайної обробки (MgSO₄, фільтрація і концентрування) залишок піддають експрес-хроматографії (5см, градієнт: гексан - 2,5% AcOEt - 5% AcOEt - 10% AcOEt-гексан), одержуючи цільову сполуку

Приклад 13 3-Циклопентил-1-метил-2-вініл-1H-індол-6-карбонова кислота



До похідного 2-броміндолу, отриманого відповідно до прикладу 12 (2,044г, 6,08ммоль), у сухому діоксані (20мл) додають вінілтрибутилово (1,954мл, 6,69ммоль). Розчин дегазують, барботуючи азот протягом 15 хв. Потім додають біс(трифенілфосфін)паладій (II) хлорид (213,4мг, 0,304ммоль), і нагрівають реакційну суміш і при 100°C протягом ночі. Реакційну суміш розбавляють ефіром і послідовно промивають водою і насиченим розчином солі. Після звичайної обробки (MgSO₄, фільтрація і концентрування) залишок піддають експрес-хроматографії (5см, 10% AcOEt-гексан), одержуючи цільову сполуку (1,32г, 4,70ммоль, вихід 77%) у вигляді білої твердої речовини.

До складного ефіру (153мг, 0,54ммоль), отриманого, як описано вище, у суміші ТГФ (2,8мл) і метанолу (1,4мл) додають водний розчин гідроксиду літію (226,6мг, 5,40ммоль у 1,6мл води). Реакційну суміш перемішують при 50°C протягом 1,5год. і розбавляють водою. Водний шар підкисляють 1 М водним розчином HCl і три рази екстрагують, використовуючи CH₂Cl₂, об'єднані органічні шари послідовно промивають водою (2×) і насиченим розчином солі. Після звичайної обробки (MgSO₄, фільтрація і концентрування) виділяють цільову неочищену кислоту (150мг).

Приклад 14 3-Циклогексил-1-метил-2-оксазол-5-іл-1H-індол-6-карбонова кислота

(773мг, 2,60ммоль, вихід 91%) у вигляді блідо-жовтої твердої речовини.

До олефінового похідного (100мг, 0,336ммоль), отриманого, як описано вище, у суміші ацетону, (690мкл), трет-бутанолу (690мкл) і води (690мкл) послідовно додають N-метилморфолін-N-оксид (NMMO; 48мг, 0,410ммоль) і 2,5%-ний розчин тетраоксиду осмію в трет-бутанолі (33мкл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом трьох днів і потім концентрують. Залишок розчиняють у EtOAc і послідовно промивають водою (2×) і насиченим розчином солі. Після звичайної обробки

(MgSO₄, фільтрація і концентрування) виділяють неочищений діол (117мг).

До неочищеного діолу (приблизно 0,336ммоль), отриманого, як вказано вище, у суміші ТГФ (3,2мл) і води (3,2мл) при 0°C додають періодат натрію (86,2мг, 0,403ммоль). Охолодну баню потім забирають і перемішують реакційну суміш при кімнатній температурі протягом 1 години 45хв. Потім додають AcOEt. Отриманий розчин послідовно промивають 10%-ним водним розчином лимонної кислоти, водою, насиченим водним розчином NaHCO₃, водою (2×) і насиченим розчином солі. Після звичайної обробки (MgSO₄, фільтрація і концентрування) виділяють цільовий неочищений альдегід (92мг, 0,307ммоль, вихід 91%).

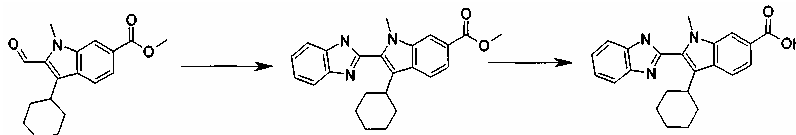
Суміш альдегіду (25,8мг, 0,086ммоль), отриманого, як описано вище, безводного карбонату натрію (12,4мг, 0,090ммоль) і Tosmic (паратолуолсульфонілметилізоціанід, 17,57мг, 0,090ммоль) в абсолютному MeOH (500мл) кип'яють із зворотним холодильником протягом 2год. Потім додають AcOEt і суміш послідовно проми-

вають водою (2×) і насиченим розчином солі. Після звичайної обробки (MgSO₄, фільтрація і концентрування) виділяють цільовий неочищений оксазол (28мг, 0,083ммоль, вихід 96%).

До складного ефіру, отриманого, як описано вище (28мг, 0,083ммоль), у суміші ТГФ (425мл), MeOH (210мл) з водою (250мл) додають гідроксид літію (34,8мг, 0,830ммоль). Реакційну суміш перемішують протягом ночі при кімнатній температурі, потім розбавляють водою і підкисляють 1Н водним розчином HCl. Водний шар екстрагують дихлорметаном (3×) і послідовно промивають водою (2×) і насиченим розчином солі. Після звичайної обробки (MgSO₄, фільтрація і концентрування) виділяють вказану в заголовку неочищену кислоту (30мг).

Приклад 15

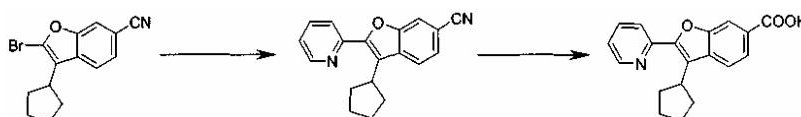
2-(1Н-бензімідазол-2-іл)-3-циклогексил-1-метил-1Н-індол-6-карбонова кислота



До суміші альдегіду, отриманого відповідно до прикладу 14 (28мг, 0,094ммоль), і 1,2-діамінобензолу (10,9мг, 0,101ммоль) в ацетонітрилі (500мл) і ДМФ (200мл) додають хлораніл (24,8мг, 0,101ммоль). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом трьох днів. Додають AcOEt і реакційну суміш послідовно промивають 1Н водним розчином NaOH (2×), водою (4×) і насиченим розчином солі. Після звичайної обробки (MgSO₄, фільтрація і концентрування) залишок піддають експрес-хроматографії (1см, 30% AcOEt-гексан), одержуючи при цьому цільове похідне бензімідазолзаміщеного складного ефіру (11мг, 0,028ммоль, вихід 30%).

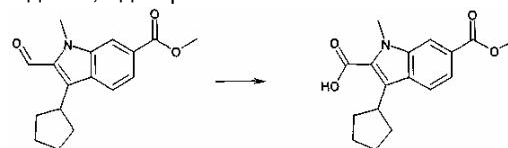
До складного ефіру, отриманого, як описано вище (11мг, 0,028ммоль), у суміші з ТГФ (240мл), MeOH (120мл) і водою (140мл) додають гідроксид літію (11,7мг, 0,280ммоль). Реакційну суміш перемішують протягом ночі при кімнатній температурі, потім розбавляють водою і підкисляють 1Н водним розчином HCl. Водний шар екстрагують дихлорметаном (3×) і послідовно промивають водою (2×) і насиченим розчином солі. Після звичайної обробки (MgSO₄, фільтрація і концентрування) виділяють вказану в заголовку неочищену кислоту (9мг, 0,0241ммоль, вихід 86%).

Приклад 16



Похідне 2-бромобензофурану, отримане відповідно до прикладу 17 (0,850г, 2,93ммоль), 2-

6-Метилловий ефір 3-циклопентил-1-метил-1Н-індол-2,6-дикарбонової кислоти



До 3-циклопентилальдегіду, отриманого за методикою, аналогічною до описаної у прикладі 15 (20мг, 0,07ммоль) і 2-метил-2-бутену (541мл, 5,11ммоль) у трет-бутанолі (500мл) при 0°C додають свіжоприготовлений розчин хлориту натрію (64,2мг, 0,711ммоль) у фосфатному буфері (98мг NaH₂PO₄ у 150мл води). Реакційну суміш перемішують протягом 45хв. при кімнатній температурі, потім додають насичений розчин солі. Водний шар двічі екстрагують, використовуючи EtOAc. Об'єднані органічні шари послідовно промивають 0,5Н водним розчином HCl і насиченим розчином солі. Після звичайної обробки (MgSO₄, фільтрація і концентрування) виділяють 23,1мг цільової неочищеної кислоти у вигляді жовтої твердої речовини.

Приклад 18

3-Циклопентил-2-піридин-2-іл-бензофуран-6-карбонова кислота

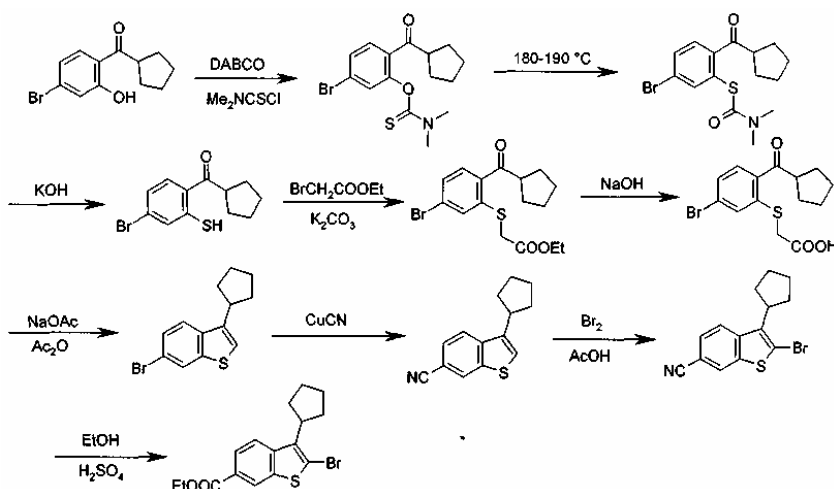
три(н-бутил)станілпіридин (1,362г, 3,7ммоль), трифенілфосфін (0,760г, 2,90ммоль), хлорид літію

(0,250г, 5,9ммоль) і CuI (0,057г, 0,3ммоль) розчиняють у ДМФ (30мл) і дегазують суміш, барбуючи аргон протягом 30хв. Додають тетракіс(трифенілфосфін)паладій (0,208г, 0,18ммоль), і перемішують суміш при 100°C в атмосфері аргону. Через 19год. реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури, виливають у воду (70мл) і екстрагують, використовуючи ТБМЕ. Органічну фазу промивають водою (2×) і насиченим розчином солі, висушують (MgSO₄) і концентрують, одержуючи при цьому залишок, який очищають експрес-хроматографією. Цільове 2(2-піридил)бензофуранове похідне (0,536г, вихід 63%) одержують у вигляді білої твердої речовини.

Нітрил, отриманий, як описано вище (0,200г, 0,694ммоль), суспендують у суміші конц. H₂SO₄ (5мл), AcOH (4мл) і води (2мл). Після кип'ятіння із зворотним холодильником протягом 1,5год. дані ТШХ свідчать про завершення гідролізу. Суміш охолоджують на льоді і додають по краплях 10Н розчин NaOH до pH9. Водний шар промивають дихлорметаном і потім підкисляють до pH6 5Н розчином HCl. Отриманий продукт екстрагують, використовуючи EtOAc, висушують (MgSO₄) і видаляють розчинники при зниженому тиску. Цільову карбонову кислоту одержують у вигляді білої твердої речовини.

Приклад 19

Етиловий ефір 2-бromo-3-циклопентил-бензо[b]тіофен-6-карбонової кислоти



До розчину 3-бromo-6-циклопентанкарбонілфенолу, отриманого відповідно до прикладу 17 (5,194г, 19,30ммоль), у ДМФ (58,0мл) додають при кімнатній температурі 1,4-діазобіцикло[2,2,2]октан (4,33г, 38,60ммоль) і диметилтіокарбамілхлорид (4,77г, 38,6ммоль). Суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 3 годин. Після цього суміш підкисляють 1Н розчином HCl до pH3 і потім екстрагують, використовуючи EtOAc. Органічні шари об'єднують і промивають насиченим розчином солі, висушують над MgSO₄. Неочищену суміш очищають, пропускаючи через шар силікагелю, використовуючи 3% EtOAc/гексан і одержуючи при цьому 6,976г (100%) цільового тіокарбамату у вигляді безбарвної маслянистої речовини.

Чистий О-3-бromo-6-циклопентанкарбоніл-N,N-диметилтіокарбамат, отриманий, як описано вище (43,147г, 121,1ммоль), нагрівають при температурі всередині колби, що дорівнює 180-190°C протягом 5 годин. Для контролю за перебігом реакції використовують ТШХ (20% EtOAc/гексан: R_f: 0,6 (вихідна речовина), 0,5 (продукт)). Неочищену сполуку використовують на наступній стадії без додаткового очищення.

S-3-бromo-6-циклопентанкарбоніл-N,N-диметилтіокарбамат, отриманий, як описано вище, без проведення очищення, розчиняють у MeOH (600мл), додають КОН (40,0г, 714ммоль) і суміш

кип'ятять із зворотним холодильником протягом 1,5 год. Суміш охолоджують до кімнатної температури і видаляють розчинник, використовуючи роторний випарник. Залишок розчиняють у воді і підкисляють 6Н розчином HCl до pH3. Потім екстрагують, використовуючи EtOAc, і очищають отриманий неочищений продукт хроматографією на силікагелі з використанням 1-5% EtOAc/гексан. Цільове похідне тіофену (31,3г, 91%) одержують у вигляді жовтої маслянистої речовини.

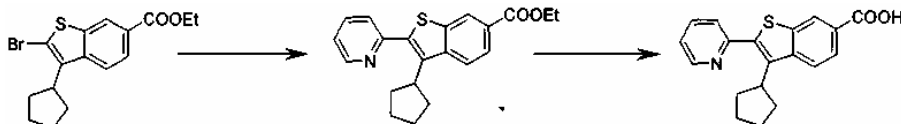
До розчину 3-бromo-6-циклопентанкарбонілтіофену, отриманого, як описано вище (0,314г, 1,105ммоль), в ацетоні (5,0мл) додають K₂CO₃ (0,477г, 3,45ммоль), а потім додають етилбромацетат (0,221г, 0,147ммоль, 1,33ммоль). Отриману суміш перемішують протягом ночі. Реакційну суміш відфільтровують через паперовий фільтр і концентрують фільтрат. Після очищення на силікагелі з використанням 5% EtOAc/гексан одержують 0,334г (82%) продукту у вигляді безбарвної маслянистої речовини.

Складний ефір, без проведення очищення, отриманий, як описано вище, розчиняють у ТГФ (12,0мл), додають при кімнатній температурі 1Н розчин NaOH (5,0мл). Суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 2-3 годин, або до тих пір, поки дані ТШХ не будуть свідчити про остаточне завершення реакції. Розчинник видаляють, використовуючи роторний випарник. Потім додають

воду, і підкисляють суміш 6Н розчином HCl до рН3, після чого екстрагують, використовуючи EtOAc, промивають насиченим розчином солі і висушують над MgSO₄. Розчинник видаляють при зниженому тиску і використовують залишок без додаткового очищення.

До кислоти, отриманої, як описано вище, без проведення очищення, додають ангідрид оцтової кислоти (16,0мл), а потім NaOAc (0,573г), після чого суміш кип'яють із зворотним холодильником протягом ночі. Суміш охолоджують до кімнатної температури і виливають у суміш льоду і толуолу. Додають 6Н розчин NaOH доти, поки значення рН не досягне приблизно 7, потім екстрагують, використовуючи EtOAc, промивають насиченим розчином солі і висушують над MgSO₄. Розчинник видаляють на роторному випарнику, а залишок очищають на силікагелі, використовуючи гексан, з одержанням при цьому 0,795г (80%) 6-бромо-3-циклопентил бензотіофену у вигляді безбарвної маслянистої речовини.

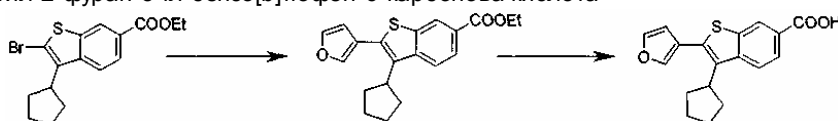
Суміш 6-бромо-3-циклопентилбензотіофену (0,723г, 2,57ммоль), отриманого, як описано вище, і ціаніду міді (0,272г, 3,04ммоль) у ДМФ (1,4мл) кип'яють із зворотним холодильником протягом ночі. Суміш охолоджують до кімнатної температури, потім розбавляють, використовуючи EtOAc. Додають 2Н розчин NH₄OH, перемішують суміш протягом 10 хвилин і відфільтровують через целіт. Водний шар екстрагують, використовуючи EtOAc. Органічні шари об'єднують і промивають насиченим розчином солі, висушують над MgSO₄, і видаляють розчинник при зниженому тиску. Отриманий продукт використовують без додаткового очищення.



Похідне 2-бромбензотіофену, отримане відповідно до прикладу 19 (0,354г, 1,00ммоль), 2-три(н-бутил)станілпіридин (0,442г, 1,2ммоль), трифенілфосфін (0,262г, 1,00ммоль), хлорид літію (0,085г, 2,0ммоль) і CuI (0,019г, 0,1ммоль) розчиняють у ДМФ (10мл) і суміш дегазують за допомогою барботування аргону протягом 30хв. Додають тетракіс(трифенілфосфін)паладій (0,069г, 0,06ммоль) і перемішують суміш при 100°C в атмосфері аргону. Через 24год. реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури, виливають у воду (70мл) і екстрагують, використовуючи ТБМЕ. Органічну фазу промивають водою (2×) і насиченим розчином солі, висушують (MgSO₄) і концентрують, одержуючи при цьому залишок, який очищають експрес-хроматографією.

Приклад 21

3-Циклопентил-2-фуран-3-іл-бензо[b]тіофен-6-карбонова кислота



2-Бромбензотіофензаміщений складний ефір, отриманий відповідно до прикладу 19, піддають

3-Циклопентил-6-ціанобензотіофен (17,65г, 77,65ммоль) розчиняють в оцтовій кислоті (310мл), потім при кімнатній температурі додають бром (49,64г, 310,6ммоль). Суміш перемішують при кімнатній температурі протягом ночі, для контролю за перебігом реакції використовують РХВР. Після завершення реакції для того, щоб видалити оцтову кислоту, до реакційної суміші додають толуол (3×100мл). Неочищений продукт висушують при зниженому тиску і використовують без додаткового очищення.

Ціанопохідне, отримане, як описано вище, без проведення очищення, додають у етанол (150мл, денатурований) і конц. H₂SO₄ (45мл), потім суміш кип'яють із зворотним холодильником протягом 1-2 днів. Після завершення реакції (за даними РХВР) реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури і виливають в охолоджувачу льодом воду, потім екстрагують дихлорметаном (5×100мл), органічні шари об'єднують і промивають 5%-ним розчином NaHCO₃ і насиченим розчином солі. Розчинник видаляють при зниженому тиску, а залишок очищають на силікагелі, використовуючи 1% EtOAc/гексан. Зібрані фракції концентрують, залишок суспендують у метанолі. Тверду речовину відфільтровують і промивають охолодженим льодом метанолом, одержуючи 15,9г (58%, дві стадії) чистого складного етилового ефіру у вигляді ясно-жовтої твердої речовини.

Приклад 20

3-Циклопентил-2-піридин-2-іл-бензо[b]тіофен-6-карбонова кислота

Складний ефір, отриманий, як описано вище, піддають гідролізу звичайним способом, використовуючи NaOH, одержуючи при цьому вказану в заголовку кислоту, яку можна використовувати безпосередньо або після очищення з використанням методу РХВР або експрес-хроматографії.

Ця кислота може вступати у взаємодію з похідними аміну відповідно до загальної методики, яка описана в прикладі 37.

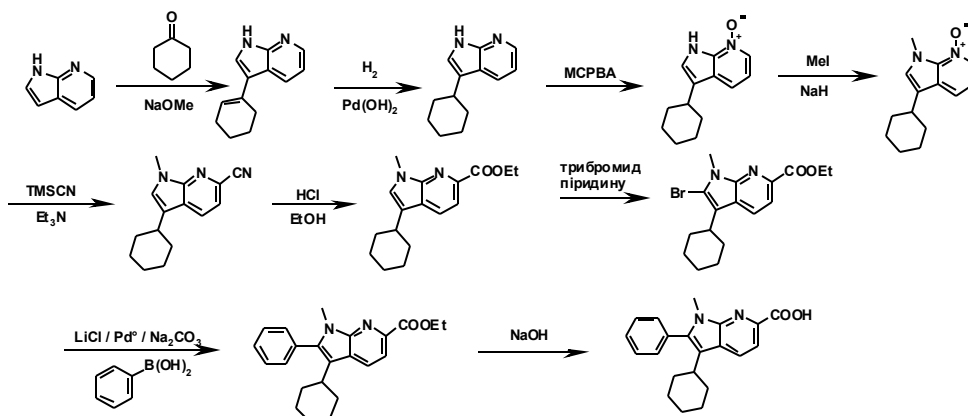
взаємодії з 3-фуранбороною кислотою, як описано в прикладі 3, з одержанням при цьому цільової

вого 2-(3-фурил)бензотіофензаміщеного складного ефіру з виходом 85%. Омилення цього складного етилового ефіру проводять, використовуючи NaOH, при кімнатній температурі з одержанням

при цьому вказаного в заголовку похідного карбонової кислоти.

Приклад 22

3-Циклогексил-1-метил-2-феніл-1Н-діроло[2,3-*b*]піридин-6-карбонова кислота



7-Азаіндол (15,00г, 0,127моль) розчиняють у MeOH (330мл), додають метоксид натрію (25% мас/мас у MeOH, 172мл, 0,753моль) і додають циклогексанон (52,86мл, 0,51моль). Суміш кип'яють із зворотним холодильником протягом 60год. і потім концентрують при зниженому тиску. Після охолодження сумішшю води з льодом реакційну суміш підкисляють до pH8, використовуючи 3Н розчин HCl, і збирають фільтрацією тверду речовину, яка випала в осад. Отриманий продукт промивають водою, розтирають із сумішшю ТБМЕ-гексан і висушують азеотропною перегонкою з толуолом (19,8г).

Речовину, отриману, як описано вище (15,00г, 75,65ммоль), розчиняють у суміші EtOH (130мл) і ТГФ (30мл) і додають 20%-ний Pd(OH)₂ на вуглиці (1,30г). Суміш підрують при тиску газоподібного H₂, що дорівнює 1атм, протягом 24год., після чого додають додаткову кількість каталізатора (1,30г). Після перемішування в атмосфері газоподібного H₂ протягом додаткових 16год. каталізатор видаляють фільтруванням і упарюють розчин при зниженому тиску з одержанням при цьому залишку, який розтирають із ТБМЕ й одержують тверду речовину янтарного кольору (13,9г).

Похідне азаіндолу, отримане, як описано вище (7,50г, 37,45ммоль), розчиняють у DME (1,2-диметоксіетан, 130мл) і додають метаклорпербензойну кислоту (12,943г, 60,0ммоль). Після перемішування протягом 2год. леткі речовини видаляють при зниженому тиску і суспендують залишок у воді (100мл). Суміш підлогувають до pH10 додаванням насиченого водного розчину Na₂CO₃ при енергійному перемішуванні. Тверду речовину потім збирають фільтрацією, промивають водою і невеликою кількістю ТБМЕ і висушують (7,90г).

N-оксид, отриманий, як описано вище, без проведення очищення, (4,00г, 18,49ммоль), розчиняють у ДМФ (350мл) і додають невеликими порціями протягом 5хв. NaH (60%-на дисперсія, 1,52г, 38ммоль). Суміш перемішують протягом 30хв., і до суспензії додають по краплях протягом 20хв.

йодметан (1,183мл, 19ммоль). Після перемішування протягом 3год при кімнатній температурі за даними аналізу методом РХВР подальший перебіг реакції не спостерігається. Реакційну суміш виливають у воду й екстрагують 3 рази, використовуючи EtOAc. Екстракт промивають насиченим розчином солі, висушують (MgSO₄) і упарюють, одержуючи при цьому тверду речовину янтарного кольору (3,65г, 60% гомогенності за даними ЯМР), яку відразу ж використовують без додаткового очищення.

Продукт, отриманий, як описано вище, без проведення очищення, (0,80г, 3,47ммоль), розчиняють у MeCN (10мл). Додають триетиламін (1,13мл, 8,1ммоль), а потім додають триметилсиліліанід (2,13мл, 16ммоль). Розчин потім кип'яють із зворотним холодильником протягом 19 год. Після охолодження до кімнатної температури реакцію зупиняють повільним додаванням водного розчину NaHCO₃ і екстрагують продукт, використовуючи EtOAc. Екстракт промивають насиченим розчином солі, висушують (MgSO₄) і концентрують, одержуючи при цьому залишок, який очищують експрес-хроматографією на силікагелі, використовуючи 15% EtOAc-гексан (0,285г).

Нітрил (0,300г, 1,254ммоль) суспендують у EtOH (15мл), потім через суспензію барботують протягом 15хв. газоподібний хлороводень, одержуючи при цьому прозорий розчин. Розчин потім кип'яють із зворотним холодильником протягом 1,5год. доти, поки дані ТШХ не будуть свідчити про повну конверсію вихідної сполуки. Після охолодження до кімнатної температури леткі речовини видаляють при зниженому тиску, а залишок розчиняють у EtOAc. Розчин промивають насиченим розчином солі, висушують (MgSO₄) і концентрують. Отриманий залишок очищують експрес-хроматографією на силікагелі (15-20% EtOAc-гексан), одержуючи при цьому цільовий складний етиловий ефір у вигляді блідо-жовтої гумоподібної речовини (0,227г).

Складний ефір, отриманий, як описано вище (0,100г, 0,35ммоль), розчиняють у ТГФ (4мл) і до-

дають пербромід гідроброміду піридинію (0,200г, 0,532ммоль). Суміш перемішують при 65°C у герметично закритій пробірці протягом 16год. (>80% конверсії). Розчин упарюють, а залишок переносять у EtOAc. Розчин промивають водою і насиченим розчином солі, висушують (MgSO₄) і концентрують. Отриману неочищену речовину очищують експрес-хроматографією на силікагелі (15% EtOAc-гексан).

Бромід, отриманий, як описано вище (0,100г, 0,274ммоль), фенілборонову кислоту (0,049г, 0,4ммоль) і хлорид літію (0,019г, 0,45ммоль) розчиняють у суміші толуолу (2мл), EtOH (2мл) і 1M Na₂CO₃ (0,43мл). Суміш дегазують, пропускаючи через розчин газоподібний аргон протягом 30хв., потім додають тетракістрифенілфосфінпаладій (0,035г, 0,03ммоль). Суміш кип'ятять із зворотним холодильником протягом 18год., після чого додають додаткову кількість каталізатора (0,035г, 0,03ммоль). Після кип'ятіння із зворотним холодильником протягом додаткових 2год. EtOH видаляють при зниженому тиску. Залишок розчиняють у EtOAc і промивають отриманий розчин 10%-ним водним розчином HCl і насиченим розчином солі, потім висушують (MgSO₄). Після видалення летких компонентів при зниженому тиску одержують жовтогарячу гумоподібну речовину, яку очищують експрес-хроматографією на силікагелі, використовуючи 20% EtOAc-гексан (0,105г, неочищений).

Частково очищений складний ефір, отриманий, як описано вище (0,100г, 0,276ммоль), розчиняють у суміші ТГФ (2мл) і EtOH (2мл). Додають 1 N розчин NaOH (2,8мл) і перемішують суміш протягом 4год. при кімнатній температурі. Леткі речовини видаляють при зниженому тиску, а залишок розбавляють 10%-ним водним розчином HCl. Отриманий продукт екстрагують, використовуючи EtOAc (3×), висушують (MgSO₄), упарюють і очищують обернено-фазовою препаративною РХВР, одержуючи при цьому вказану в заголовку сполуку.

Приклад 23

Інгібування активності NS5B - РНК-залежної РНК-полімерази

Сполуки, які є предметом даного винаходу, були протестовані у відношенні активності інгібування РНК-залежної РНК-полімерази (NS5B) вірусу гепатиту С відповідно до наступної методики проведення аналізу.

Субстрати являють собою:

праймер - 12-нуклеотидний РНК олігоуридилат (або олігоуридинмонофосфат) (оліго-U), модифікований біотином у вільному 5'C-положенні;

матриця - комплементарний поліаденілат (або аденозинмонофосфат) (поліА) з ланцюгом різної довжини (1000-10000 нуклеотидів); і

UTP-[5,6³H].

Полімеразну активність вимірюють як включення UMP-[5,6³H] у ланцюг, що продовжується в напрямку від оліго-U праймера. Продукт реакції, мічений ³H, уловлюється з використанням SPA-гранул, покритих стрептавідином, і кількісно оцінюється з використанням лічильника «TopCount».

Усі розчини готують, використовуючи оброблену ДЕПК і очищену з використанням пристрою «MilliQ» воду [2мл ДЕПК додають до 1л води, обробленої з використанням пристрою «MilliQ»; суміш енергійно струшують для того, щоб розчинити ДЕПК, потім витримують в автоклаві при 121°C протягом 30 хвилин].

Фермент: HCV NS5B повної довжини (SEQ ID NO.1) виділяють як N-кінцевий гексагістидиновий злитий білок інфікованих бакуловірусом клітин комах. Цей фермент можна зберігати при -20°C у буфері для зберігання (див. нижче). У цих умовах, як було виявлено, він зберігає свою активність протягом принаймні 6 місяців.

Субстрати: біотинільований оліго-U₁₂ праймер, полі(А)-матриця і UTP-[5,6³H] розчиняють у воді. Розчини зберігають при -80°C.

Буфер для аналізу:

20мМ Трис-HCl pH7,5

5мМ MgCl₂

25мМ KCl

1мМ ЕДТА

1мМ ДТТ

Буфер для зберігання NS5B:

0,1мкМ NS5B

25мМ Трис-HCl pH7,5

300мМ NaCl

5мМ ДТТ

1мМ ЕДТА

0,1% н-додецилмальтозиду

30% гліцерину

Суміш для дослідження, яка містить тестовану сполуку

Безпосередньо перед початком дослідження тестовану сполуку, яка є предметом даного винаходу, розчиняють у буфері для дослідження, який містить 15% ДМСО.

Суміш, яка містить субстрат

Безпосередньо перед початком дослідження субстрати змішують у буфері для дослідження в наступних концентраціях:

Компонент	Концентрація в суміші, яка містить субстрат	Кінцева концентрація в досліджуваній системі
«RNAsin™»	0,5Од/мкл	1,67Од/мкл
Праймер-біотин-оліго-U ₁₂	3нг/мкл	1нг/мкл
ПоліА матриця	30нг/мкл	10нг/мкл
UTP-[5,6- ³ H] 35Кюрі/ммоль	0,025мкКюрі/мкл	0,0083мкКюрі/мкл 0,25мкМ
UTP	2,25мкМ	0,75мкМ

Суміш, яка містить фермент

Безпосередньо перед початком дослідження готують суміш, яка містить РНК-полімеразу (NS5B), відповідно до наступної інструкції:

Компонент	Концентрація в суміші
Трис-НСІ при рН7,5	20мМ
MgCl ₂	5мМ
KCl	25мМ
ЕДТА	1мМ
ДТТ	1мМ
н-Додецилмальтозид	1%
NS5B	30нМ

Методика:

Досліджувану реакцію здійснюють у білих планшетах з "U"-подібними лунками Microfluor™ (Dynatech™ #7105), при послідовному додаванні:

20мкл суміші, яка містить тестовану сполуку;

20мкл суміші, яка містить субстрат; і

20мкл суміші, яка містить фермент

(кінцева [NS5B] в аналізованій суміші =10нм; кінцева [н-додецилмальтозиду] в аналізованій суміші =0,33%; кінцевий вміст ДМСО в аналізованій суміші =5%).

Реакційну суміш інкубують при кімнатній температурі протягом 1,5 години. Додають розчин для припинення реакції (20мкл; 0,5М ЕДТА, 150нг/мкл тРНК), а потім 30мкл покритих стрептавідином РVТ-гранул (8мг/мл у 20мМ Трис-НСІ, рН7,5, 25мМ KCl, 0,025% NaN₃). Планшет струшують протягом 30 хвилин. Додають розчин CsCl (70мкл, 5М), таким чином, щоб довести концентрацію CsCl до 1,95М. Отриману суміш залишають стояти протягом 1 години. Гранули потім кількісно аналізують, використовуючи прилад TopCount™ фірми «Hewlett Packard» відповідно до наступної методики:

Вимірювані характеристики: відліки на хвилину

Сцинтилятор: рід/шар

Енергетичний рівень: низький

Режим роботи: нормальний

Область: 0-50

Періодичність відліку: 5 хвилин

Тривалість відліку: 1 хвилинка

Очікувані результати: 6000 відліків/на лунку

200 відліків/на лунку без ферментного контролю.

За результатами вимірювань для 10 різних концентрацій тестованої сполуки будують криві стандартна концентрація - % інгібування й аналізують отримані дані для визначення величини концентрації IC₅₀ для сполук, які є предметом даного винаходу. Для тих самих сполук величину IC₅₀ визначають за двома точками.

Приклад 24

Специфічність інгібування NS5B РНК-залежної РНК-полімерази

Сполуки, які є предметом даного винаходу, тестують у відношенні активності інгібування РНК-залежної РНК-полімерази поліовірусу і ДНК-залежної РНК-полімерази II тимусу теляти в умовах, описаних для HCV-полімерази, за винятком того, що замість NS5B - полімерази вірусу HCV - використовують іншу полімеразу.

Приклад 25

Дослідження реплікації HCV РНК із використанням клітин

Культура клітин

Клітини Huh7, які стабільно підтримують субгеномний HCV-реплікон, одержують, як описано раніше [Lohman et al., Science, 1999, v.285, p.110-113], і позначають як лінія клітин S22.3. Клітини лінії S22.3 утримують у модифікованому за способом Дульбекко середовищі Ігла (DMEM-середовище), що підтримується 10% ФТС (фетальна теляча сироватка) і 1мг/мл неоміцину (стандартне середовище). При проведенні дослідження використовують DMEM-середовище, що підтримується 10% ФТС, яке містить 0,5% ДМСО і яке не містить неоміцину (середовище для проведення дослідження). За 16 годин до додавання сполуки клітини лінії S22.3 обробляють трипсином і розбавляють стандартним середовищем до 50 000 клітин на мл. У кожен лунку 96-лункового планшета поміщують по 200мкл (10 000 клітин). Потім планшет інкубують при 37°C з 5% CO₂ до наступного дня.

Реагенти і матеріали

Продукт	Фірма	Номер за каталогом	Умови зберігання
DMEM-середовище	Wisent Inc.	10013CV	4°C
ДМСО	Sigma	D-2650	Кімнатна температура
Забуферений фосфатом фізіологічний розчин (ЗФР) за Дульбекко	Gibco-BRL	14190-136	Кімнатна температура
Фетальна теляча сироватка (ФТС)	Bio-Whittaker	14-901F	-20°C/4°C
Неоміцин (G418)	Gibco-BRL	10131-027	-20°C/4°C
Трипсин-ЕДТА	Gibco-BRL	25300-054	-20°C/4°C
96-лункові планшети	Costar	3997	Кімнатна температура
PVDF (0,22мкм) фільтрувальний модуль	Millipore	SLGV025LS	Кімнатна температура
Тритраційний планшет із глибокими лунками, з поліпропілену	Beckman	267007	Кімнатна температура

Підготовка сполуки для тестування

10мкл тестованої сполуки (у 100% ДМСО) додають до 2мл середовища для проведення дослідження до кінцевої концентрації ДМСО, що дорівнює 0,5%, і піддають ультразвуковому впливу протягом 15 хвилин, після чого відфільтровують, використовуючи фільтрувальний модуль «Millipore Filter Unit», 0.22мкм. Потім 900мкл переносять у ряд А поліпропіленового титраційного планшета з глибокими лунками «Polypropylene Deep-Well Titer Plate». Ряди від В до Н містять аликвоти по 400мкл середовища для проведення дослідження (що містить 0,5% ДМСО), їх використовують для одержання серійних розведень (1/2) за допомогою перенесення 400мкл із ряду в ряд (у ряді Н сполуки немає).

Вплив тестованої сполуки на клітини

Середовище для культури клітин видаляють з 96-лункового планшета, що містить клітини лінії S22.3. По 175мкл середовища для проведення дослідження з придатним розведенням тестованої сполуки переносять з кожної лунки планшета із сполукою у відповідну лунку планшета з культурою клітин (ряд Н використовують як контрольний ряд "Відсутність інгібування"). Планшет з культурою клітин інкубують при 37°C з 5% CO₂ протягом 72 годин.

Екстракція сумарної кількості РНК клітин

Після 72-годинного періоду інкубування екстрагують сумарну кількість клітинної РНК із клітин лінії S22.3, що знаходяться в 96-лунковому планшетах з використанням набору «RNeasy 96 Kit» [Qiagen®, RNeasy Handbook. 1999.]. Коротко, середовище для проведення дослідження видаляють від клітин, і в кожну лунку 96-лункового планшета з культурою клітин додають по 100мкл RLT-буфера (Qiagen®), що містить 143мМ (3-меркаптоетанолу). Мікропланшет обережно струшують протягом 20сек. Потім у кожну лунку мікропланшета додають по 100мкл 70%-ного етанолу і перемішують за допомогою піпетки. Видаляють лізат і наносять на лунки 96 лункового планшета «RNeasy 96 Kit» (Qiagen®), що розміщують у верхній частині блоку «Square-Well Block» фірми Qiagen®. Планшет «RNeasy 96 Kit» герметично заклеюють липкою стрічкою, і блок «Square-Well Block» із планшетом «RNeasy 96 Kit» завантажують у контейнер і поміщують в обертовий тримач центрифуги 4K15C. Зразки центрифугують із швидкістю 6000 обертів на хвилину (~5600 x g) протягом 4 хвилин при кімнатній температурі. Знімають із планшета липку стрічку, і в кожну лунку 96-лункового планшета «RNeasy 96 Kit» додають по 0,8мл RWI-буфера з набору (фірма Qiagen®, «RNeasy 96 Kit»). Планшет «RNeasy 96 Kit» герметично закривають новим шматком липкої стрічки і центрифугують із швидкістю 6000 обертів на хвилину протягом 4 хвилин при кімнатній температурі. Планшет «RNeasy 96 Kit» поміщують наверх іншого чистого блоку «Square-Well Block», видаляють липку стрічку й у кожну лунку 96-лункового планшета «RNeasy 96 Kit» додають по 0,8мл RPE-буфера з набору (фірма Qiagen®, «RNeasy 96 Kit»). Планшет «RNeasy 96 Kit» герметично закле-

юють новим шматком липкої стрічки і центрифугують із швидкістю 6000 обертів на хвилину протягом 4 хвилин при кімнатній температурі. Липку стрічку видаляють і в кожну лунку планшета «RNeasy 96 Kit» додають ще 0,8мл RPE-буфера (фірма Qiagen®, набір «RNeasy 96 kit»). Планшет «RNeasy 96 Kit» герметично заклеюють новим шматком липкої стрічки і центрифугують із швидкістю 6000 обертів на хвилину протягом 4 хвилин при кімнатній температурі. Липку стрічку видаляють, 96-лунковий планшет «RNeasy 96 Kit» поміщують у верхню частину штатива, що містить мікропробірки для збору об'ємом 1,2мл. РНК елюють додаванням у кожну лунку по 50мкл RN-ази, яка не містить води, з наступним герметичним заклеюванням новим шматком липкої стрічки і інкубуванням протягом 1 хвилини при кімнатній температурі. Потім планшет центрифугують із швидкістю 6000 обертів на хвилину протягом 4 хвилин при кімнатній температурі. Повторюють стадію елювання, використовуючи іншу порцію об'ємом 50мкл RN-ази, яка не містить води. Мікропробірки, що містять сумарну кількість клітинної РНК, зберігають при -70°C.

Кількісне визначення сумарної кількості клітинної РНК

Кількісне визначення РНК проводять, використовуючи систему «STORM® system» (Molecular Dynamics®), з використанням набору для кількісного визначення РНК, що включає реагент «RiboGreen», «RiboGreen® RNA Quantification Kit» (Molecular Probes®). Коротко, реагент «RiboGreen» 200-кратно розбавляють, використовуючи ТЕ (10мМ Трис-НСІ рН=7.5, 1мМ ЕДТА). Як правило, 50мкл реагенту розбавляють, використовуючи 10мл ТЕ. Кількість рибосомної РНК, що відповідає значенням на стандартному графіку, розбавляють, використовуючи ТЕ, до 2мкг/мл і потім попередньо задану кількість (100, 50, 40, 20, 10, 5, 2 і 0мкл) розчину рибосомної РНК переносять у новий 96-лунковий планшет (COSTAR#3997) і доводять об'єм до 100мкл, використовуючи ТЕ. Як правило, колонку 1 96-лункового планшета використовують для зразків для стандартної кривої, а інші лунки використовують для зразків РНК, кількісний аналіз яких необхідно зробити. По 10мкл кожного із зразків РНК, які необхідно кількісно проаналізувати, переносять у відповідні лунки 96-лункового планшета і додають 90мкл ТЕ. Додають у кожну лунку 96-лункового планшета один об'єм (100мкл) розведеного реагенту «RiboGreen» і інкубують протягом від 2 до 5 хвилин при кімнатній температурі, захищаючи від світла (10мкл зразка РНК у пробі з кінцевим об'ємом 200мкл відповідають розведенню 20 X). Інтенсивність флуоресценції кожної лунки вимірюють за допомогою системи «STORM®» (Molecular Dynamics®). Стандартну криву будують, використовуючи дані для відомих кількостей рибосомної РНК і отримані значення інтенсивності флуоресценції. Концентрацію РНК в експериментальних зразках визначають за стандартною кривою і коректують для розведення 20 X.

Реагенти і матеріали:

Продукт	Фірма	Номер за каталогом	Умови зберігання
ДЕПК	Sigma	D5758	4°C
ЕДТА	Sigma	E5134	Кімнатна температура
Реагент «Trizma-Base»	Sigma	T8524	Кімнатна температура
Реагент «Trizma-HCl»	Sigma	T7149	Кімнатна температура
Набір «Collection Tube Strips»	Qiagen	19562	Кімнатна температура
Набір для кількісного визначення «Ribogreen RNA Quantitation Kit»	Molecular Probe	R11490	-20°C
Набір «RNeasy 96 Kit»	Qiagen	74183	Кімнатна температура
Пристрій «Square-Well Blocks»	Qiagen	19573	Кімнатна температура

Здійснювана в реальному часі реакція RT-PCR

Здійснювану в реальному часі реакцію RT-PCR проводять з використанням системи «ABI Prism 7700 Sequence Detection System», використовуючи набір «TaqMan EZ RT-PCR Kit» фірми «Perkin-Elmer Applied Biosystems®». Полімеразну реакцію синтезу ланцюга RT-PCR оптимізують для проведення кількісного визначення 5' IRES, що належить РНК вірусу HCV з використанням методики Taqman (фірма «Roche Molecular Diagnostics Systems»), аналогічній до раніше описаної методики [Martell et al., 1999, J. CHn. Microbiol. v.37, p.327-332]. У цій системі використовують 5'-3' нуклеотичну активність AmpliTaq ДНК-полімерази. Коротко, відповідно до цієї методики використовують здатну до прояву флуоресценції гібридаційну пробу з двома мітками (пробу PUTR), що специфічно гібридується з матрицею між PCR-праймерами (праймери 8125 і 7028). 5'-кінцева ділянка проби містить флуоресцентний репортер (6-карбоксифлуоресцеїн [FAM]), а 3'-кінцева ділянка містить гасник флуоресценції (6-карбокситетраметилпродамін [TAMRA]). У неушкодженій гібридаційній пробі спектр емісії FAM-репортера пригнічується гасником флуоресценції. Деградація нуклеази гібридаційної проби приводить до вивільнення репортера, внаслідок чого підсилюється емісія флуоресценції. За допомогою детектора «ABI Prism 7700 sequence detector» вимірюють збільшення емісії флуоресценції протягом процесу PCR-ампліфікації, виходячи з умови, що кількість продукту ампліфікації пропорційна до інтенсивності сигналу. Криву ампліфікації аналізують у точці, яка відповідає початку реакції, що представляє логарифмічну фазу нагромадження продукту. Точку, що відповідає певному порогові детектування збільшення сигналу флуоресценції

для детектора послідовності надходження сигналів, зв'язану з експоненціальним ростом утворення PCR-продукту, визначають як порогову величину циклу (C_T). Значення C_T обернено пропорційні кількості РНК вірусу HCV, яка вводиться; виходячи з умови, що при ідентичних умовах протікання PCR чим вище вихідна концентрація РНК вірусу HCV, тим нижче значення C_T . Стандартна крива будується автоматично з використанням системи детектування «ABI Prism 7700 detection system» за допомогою побудови залежності значення C_T від значення для кожного зі стандартних розведень відомої концентрації РНК вірусу HCV.

Посилальні зразки для побудови стандартної кривої використовують у кожному планшеті для проведення реакції RT-PCR. HCV реплікон РНК вірусу HCV синтезують (за допомогою T7 транскрипції) *in vitro*, очищують і кількісно аналізують за допомогою OD₂₆₀. Вважаючи, що 1мкг цієї РНК=2,15×10¹¹ РНК-копій, розведення здійснюють у такій послідовності, щоб мати 10⁸, 10⁷, 10⁶, 10⁵, 10⁴, 10³ або 10² геномних РНК-копій/5мкл. Сумарну кількість РНК клітин Huh-7 також вводять при кожному розведенні (50нг/5мкл). 5мкл кожного посилюального стандарту (HCV реплікон +Huh-7 РНК) об'єднують з 45мкл суміші реагентів і використовують при проведенні в реальному часі полімеразної реакції синтезу ланцюга RT-PCR.

Для проведення полімеразної реакції синтезу ланцюга RT-PCR використовують експериментальні зразки, які були очищені з використанням 96-лункового планшета «RNeasy 96 Kit» за допомогою об'єднання 5мкл кожного із зразків клітинної РНК із 45мкл суміші реагентів.

Реагенти і матеріали:

Продукт	Фірма	Номер за каталогом	Умови зберігання
Набір «TaqMan EZ RT-PCR Kit»	PE Applied Biosystems	N808-0236	-20°C
«MicroAmp Optical Caps»	PE Applied Biosystems	N801-0935	кімнатна температура
96-лунковий мікропланшет «MicroAmp Optical 96-Well Reaction Plate»	PE Applied Biosystems	N801-0560	кімнатна температура

Приготування суміші реагентів

Компонент	Об'єм для приготування одного зразка (мкл)	Об'єм для одного планшета (мкл) (91 зразок + безпосередньо невикористаний об'єм)	Кінцева концентрація
Вода, що не містить RN-азу	16,5	1617	
Буфер «5X TaqMan EZ buffer»	10	980	IX
Mn(OAc) ₂ (25мМ)	6	588	3мМ
dATP (10мМ)	1,5	147	300мкМ
dCTP (10мМ)	1,5	147	300мкМ
dGTP (10мМ)	1,5	147	300мкМ
dUTP (20мМ)	1,5	147	600мкМ
Прямий праймер (10мкМ)	1	98	200нМ
Зворотний праймер (10мкМ)	1	98	200нМ
Проба PUTR (5мкМ)	2	196	200нМ
rTth ДНК-полімераза (2,5Од/мкл)	2	196	0,1Од/мкл
AmpErase UNG (1Од/мкл)	0,5	49	0,01Од/мкл
Сумарний об'єм	45	4410	

Послідовність прямого праймера (SEQ ID NO: 2): 5'-ACG CAG AAA GCG TCT AGC CAT GGC GTT AGT-3'

Послідовність зворотного праймера (SEQ ID NO:3): 5'-TCC CGG GGC ACT CGC AAG CAC CCT ATC AGG-3'

Примітка: ці праймери ампліфікують ділянку 256-nt, яка знаходиться всередині 5' нетрансльованої ділянки вірусу HCV.

Опис послідовності проби PUTR (SEQ ID NO:4): 6FAM -TGG TCT GCG GAA CCG GTG AGT ACA CC - TAMRA

Без матричного контролю (NTC): У кожному планшеті 4 лунки використовують як "NTC". У ці контрольні лунки замість РНК додають 5мкл води.

Умови проведення термічних циклів:

50°C, 2хв

60°C, 30хв

95°C, 5хв

95°C, 15сек } для 2 циклів
60°C, 1хв }

90°C, 15сек } для 40 циклів
60°C, 1хв }

Після термінації полімеразної реакції синтезу ланцюга RT-PCR для проведення аналізу даних необхідно провести визначення величини порогового сигналу флуоресценції PCR-планшета (планшета, у якому проводять полімеразну реакцію синтезу ланцюга) і побудувати стандартну

криву за допомогою нанесення значень Ct для значення кількості копій РНК, які використовуються у кожній послідовній реакції. Значення Ct, отримані для досліджуваних зразків, інтерполюють з кількістю копій РНК, базуючись на стандартній кривій.

На закінчення, значення числа копій РНК нормалізують (ґрунтуючись на кількісному визначенні сумарної РНК, екстрагованої з лунок з культурою клітин, проведеному з використанням реагенту «RiboGreen») і виражають як геномні еквіваленти/мкг сумарної РНК [ген. екв/мкг].

Значення числа копій РНК [ген. екв/мкг] для кожної лунки планшета з культурою клітин являє собою вимірювану кількість РНК вірусу HCV, яка реплікується, у присутності різних концентрацій інгібітору. Процентне значення (%) інгібування обчислюють за наступною формулою:

$$100 - [(ген. екв./мкг inh) / (ген. екв./мкг ctrl) \times 100].$$

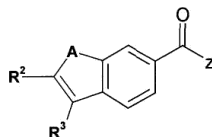
Для даних залежності інгібування - концентрація використовують нелінійну криву, що відповідає моделі Хіла, і обчислюють 50% ефективну концентрацію (EC₅₀), використовуючи програмне забезпечення фірми «SAS» (Statistical Software System; SAS Institute, Inc. Cary, N.C.).

У наведених нижче таблиці 1 використані наступні інтервали:

















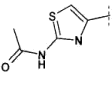
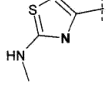
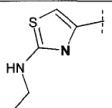
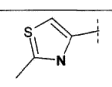
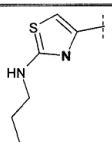
IC₅₀: A=≥1мкМ; B=1мкМ-500нМ; і C<500нМ.

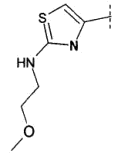
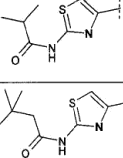
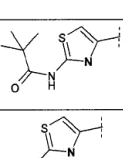
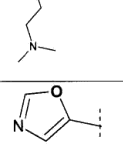
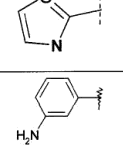
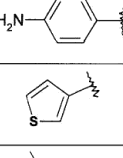
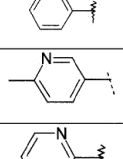
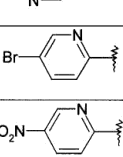
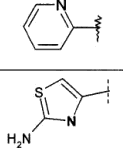
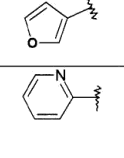


EC₅₀: A=≥1мкМ; і B<1мкМ

Таблиця 1



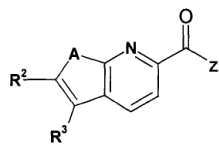
Спол.№	A	R ²	R ³	Z	IC ₅₀	EC ₅₀	m/z (M+H) ⁺
101	N-Me	феніл	циклогексил	ОН	A	--	334,1
102	NH		циклогексил	ОН	A	A	310,0

103	NH		циклогексил	ОН	A	--	308,0
104	NH		циклогексил	ОН	A	--	324,0 (M-H)
105	NH	Br	циклогексил	ОН	A	--	319,9
106	N-Me		циклогексил	ОН	B	A	335,2
107	N-Me		циклогексил	ОН	B	A	324,1
108	N-Me		циклогексил	ОН	B	B	349,1
109	N-Me		циклогексил	ОН	C	A	336,1
110	NH		циклопентил	ОН	C	--	296,0
111	N-Me		циклопентил	ОН	C	A	310,0
112	N-Me		циклогексил	ОН	C	A	350,1
113	N-Me		циклопентил	ОН	C	--	336,1
114			циклогексил	OMe	A	A	382
115	N-Me		циклопентил	ОН	B	A	321
116			циклогексил	ОН	C	--	368,1
117	N-Me		циклопентил	ОН	C	A	327,1
118	N-Me		циклопентил	ОН	C	A	384,1
119	N-Me		циклопентил	ОН	B	A	356,2
120	N-Me		циклопентил	ОН	A	--	370,2
121	N-Me		циклопентил	ОН	B	A	341,1
122	N-Me		циклопентил	ОН	A	--	384,2

123	N-Me		циклопентил	ОН	C	A	400,2
124	N-Me		циклопентил	ОН	A	--	384,1
125	N-Me		циклопентил	ОН	A	--	440,2
126	N-Me		циклопентил	ОН	A	--	426,2
127	N-Me		циклопентил	ОН	C	A	413,2
128	N-Me		циклопентил	ОН	C	A	311,1
129	N-Me		циклопентил	ОН	B	A	327,1
130	N-Me		циклопентил	ОН	A	--	335,2
131	N-Me		циклопентил	ОН	B	A	335,2
132	N-Me		циклопентил	ОН	C	A	326,1
133	N-Me		циклопентил	ОН	B	A	335,2
134	N-Me		циклопентил	ОН	B	--	335,2
135	N-Me		циклопентил	ОН	C	A	322,2
136	N-Me		циклопентил	ОН	B	--	399,1
137	N-Me		циклопентил	ОН	B	--	366,1
138	S		циклопентил	ОН	A	A	324,1
139	N-Me		циклогексил	ОН	C	--	356,1
140	S		циклопентил	ОН	A	--	331,1
141	O		циклопентил	ОН	A	A	308,2

142	NH		циклогексил	ОН	A	--	321,1
143			циклогексил	ОН	B	--	379,2
144	N-Me		циклопентил	ОН	A	--	355,0
145	NH		циклопентил	ОН	A	A	307,1
146			циклогексил	ОН	A	--	471,1
147	N-Me		циклопентил	ОН	A	--	351,1
148	N-Me		циклопентил	ОН	B	--	339,1
149			циклогексил	ОН	B	--	457,2
150	N-Me			ОН	--	--	319,0

Таблиця 2



Спол. №	A	R ²	R ³	Z	IC ₅₀	EC ₅₀	m/z (M+H) ⁺
201	N-Me	феніл	циклогексил	ОН	A	--	335,3
202	N-Me		циклогексил	ОН	A	--	325,2

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> Вьорінгер Інгельхайм (Канада) Лтд.

<120> Інгібітори вірусної полімерази

<130> 13/095

<140> 60/307,674

<141> 2001-07-25

<150> 60/338,061

<151> 2001-12-07

<160> 4

<170> Програма FastSEQ для Windows, версія 4.0

<210> 1
 <211> 621
 <212> PRT
 <213> HCV NS5B

<400> 1

```

Met Ser Tyr Tyr His His His His His His Asp Tyr Asp Ile Pro Thr
 1      5      10      15
Thr Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly Ala Met Asp Pro Glu Phe Ser Met
 20      25      30
Ser Tyr Thr Trp Thr Gly Ala Leu Ile Thr Pro Cys Ala Ala Glu Glu
 35      40      45
Ser Gln Leu Pro Ile Asn Ala Leu Ser Asn Ser Leu Val Arg His Arg
 50      55      60
Asn Met Val Tyr Ser Thr Thr Ser Arg Ser Ala Ala Leu Arg Gln Lys
 65      70      75      80
Lys Val Thr Phe Asp Arg Leu Gln Val Leu Asp Asp His Tyr Arg Asp
 85      90      95
Val Leu Lys Glu Met Lys Ala Lys Ala Ser Thr Val Lys Ala Lys Leu
100      105      110
Leu Ser Val Glu Glu Ala Cys Lys Leu Thr Pro Pro His Ser Ala Lys
115      120      125
Ser Lys Phe Gly Tyr Gly Ala Lys Asp Val Arg Asn Leu Ser Ser Lys
130      135      140
Ala Val Asp His Ile Arg Ser Val Trp Lys Asp Leu Leu Glu Asp Thr
145      150      155      160
Glu Thr Pro Ile Asp Thr Thr Ile Met Ala Lys Asn Glu Val Phe Cys
165      170      175
Val Gln Pro Glu Lys Gly Gly Arg Lys Pro Ala Arg Leu Ile Val Phe
180      185      190
Pro Asp Leu Gly Val Arg Val Cys Glu Lys Met Ala Leu Tyr Asp Val
195      200      205
Val Ser Thr Leu Pro Gln Ala Val Met Gly Ser Ser Tyr Gly Phe Gln
210      215      220
Tyr Ser Pro Lys Gln Arg Val Glu Phe Leu Val Asn Ala Trp Lys Ser
225      230      235      240
Lys Lys Cys Pro Met Gly Phe Ser Tyr Asp Thr Arg Cys Phe Asp Ser
245      250      255
Thr Val Thr Glu Ser Asp Ile Arg Val Glu Glu Ser Ile Tyr Gln Cys
260      265      270
Cys Asp Leu Ala Pro Glu Ala Arg Gln Ala Ile Lys Ser Leu Thr Glu
275      280      285
Arg Leu Tyr Ile Gly Gly Pro Leu Thr Asn Ser Lys Gly Gln Asn Cys
290      295      300
Gly Tyr Arg Arg Cys Arg Ala Ser Gly Val Leu Thr Thr Ser Cys Gly
305      310      315      320
Asn Thr Leu Thr Cys Tyr Leu Lys Ala Ser Ala Ala Cys Arg Ala Ala
325      330      335
Lys Leu Gln Asp Cys Thr Met Leu Val Asn Gly Asp Asp Leu Val Val
340      345      350
Ile Cys Glu Ser Ala Gly Thr Gln Glu Asp Ala Ala Asn Leu Arg Val
355      360      365
Phe Thr Glu Ala Met Thr Arg Tyr Ser Ala Pro Pro Gly Asp Leu Pro
370      375      380
Gln Pro Glu Tyr Asp Leu Glu Leu Ile Thr Ser Cys Ser Ser Asn Val
385      390      395      400
Ser Val Ala His Asp Ala Ser Gly Lys Arg Val Tyr Tyr Leu Thr Arg
405      410      415
Asp Pro Thr Thr Pro Leu Ala Arg Ala Ala Trp Glu Thr Ala Arg His
420      425      430
Thr Pro Ile Asn Ser Trp Leu Gly Asn Ile Ile Met Tyr Ala Pro Thr
435      440      445
Leu Trp Ala Arg Met Val Leu Met Thr His Phe Phe Ser Ile Leu Leu
450      455      460
Ala Gln Glu Gln Leu Glu Lys Ala Leu Asp Cys Gln Ile Tyr Gly Ala
465      470      475      480
Cys Tyr Ser Ile Glu Pro Leu Asp Leu Pro Gln Ile Ile Glu Arg Leu
485      490      495
His Gly Leu Ser Ala Phe Ser Leu His Ser Tyr Ser Pro Gly Glu Ile
500      505      510
Asn Arg Val Ala Ser Cys Leu Arg Lys Leu Gly Val Pro Pro Leu Arg
515      520      525
Val Trp Arg His Arg Ala Arg Ser Val Arg Ala Lys Leu Leu Ser Gln
530      535      540
Gly Gly Arg Ala Ala Thr Cys Gly Lys Tyr Leu Phe Asn Trp Ala Val
545      550      555      560
Arg Thr Lys Leu Lys Leu Thr Pro Ile Pro Ala Ala Ser Arg Leu Asp
565      570      575

```

