



УКРАЇНА

(19) UA (11) 80742 (13) C2

(51) МПК

C07C 235/28 (2006.01)

A61K 31/195 (2006.01)

A61K 31/216 (2006.01)

A61K 31/405 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

C07C 235/76 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) ПРОТИВІРУСНИЙ ЛІКАРСЬКИЙ ЗАСІБ

1

2

(21) a200508642

(22) 12.02.2004

(24) 25.10.2007

(86) PCT/JP2004/001498, 12.02.2004

(31) 2003-034056

(32) 12.02.2003

(33) JP

(31) 2003-272420

(32) 09.07.2003

(33) JP

(72) АОКІ МАСАХІРО, КАТО ХІДЕЮКІ, СУДОХ
МАСАЮКІ, ЦУКУДА ТАКУО, МАСУБУЧІ МІЯКО,
КАВАСАКІ КЕНІЧІ

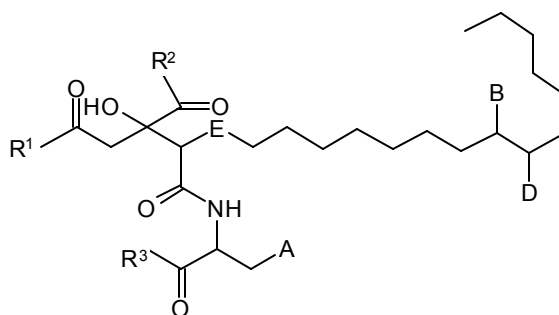
(73) ЧУГАІ СЕЙЯКУ КАБУШІКІ КАЙСЯ

(56) ESUMI T. ET AL: 'Synthesis of Viridifungin A
Trimethyl Ester and Determination of the Absolute
Structure of Viridifungin A' TETRAHEDRON
LETTERS vol. 39, no. 8, 1998, pages 877 - 880,
XP004106824

EP 1002793 A1 24.05.2000

EP 526936 A2 10.02.1993

WO 94/18157 A1 18.08.1994

BORDIER B.B. ET AL: 'A prenylation inhibitor
prevents production of infectious hepatitis delta virus
particles' JOURNAL OF VIROLOGY vol. 76, no. 20,
October 2002, pages 10465 - 10472, XP002979358
WO 93/24660 A1 09.12.1993(57) 1. Фармацевтична композиція для
профілактики або лікування вірусних інфекційних
захворювань, що містить сполуку, що
представлена наступною загальною формулою (I):

(в якій

А представляє феніл, заміщений -ОХ, або 3-індоліл;

Х представляє атом водню, лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-8 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю;

В представляє атом водню, гідроксильну групу, оксогрупу, -N(R⁴)(R⁵), =N-OH, =N-OR⁶ або атом галогену;R⁴ і R⁵ можуть бути однаковими або різними і кожен представляє атом водню, лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-6 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-6 атомів вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-6 атомів вуглецю, або R⁴ і R⁵ разом представляють 3-8-членне кільце;R⁶ представляє лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-8 атомів вуглецю (яка може бути заміщена аміногрупою, яка може бути моно- або дизаміщеною лінійною або розгалуженою алкільною групою, що має 1-4 атоми вуглецю);

D представляє атом водню або гідроксильну групу;

(13) C2

(11) 80742

(19) UA

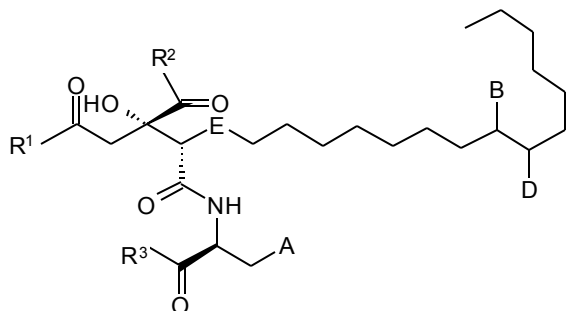
Е представляє простий зв'язок або подвійний зв'язок;

R^1 , R^2 і R^3 можуть бути однаковими або різними і кожен представляє атом водню, гідроксильну групу, аміногрупу (яка може бути моно- або дизаміщеною лінійною або розгалуженою алкільною групою, що має 1-4 атоми вуглецю), -OZ, лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-4 атоми вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю; і

Z представляє лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-4 атоми вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю),

її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль.

2. Фармацевтична композиція згідно з пунктом 1, що містить сполуку формули (I) згідно з пунктом 1, що представлена наступною загальною формулою (I'), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль:



(в якій A, B, D, зв'язок E, R^1 , R^2 і R^3 є такими ж, як визначено в пункті 1).

3. Фармацевтична композиція згідно з пунктом 1 або 2, що містить сполуку формули (I), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль, в якій A представляє феніл, заміщений -OX в положенні 4, X представляє атом водню, лінійний або розгалужений алкіл, що має 1-8 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю.

4. Фармацевтична композиція згідно з будь-яким з пунктів 1-3, що містить сполуку формули (I), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль, в якій B представляє оксогрупу, атом водню, гідроксильну групу або =N-OR⁶.

5. Фармацевтична композиція згідно з будь-яким з пунктів 1-4, що містить сполуку формули (I), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль, в якій R^1 , R^2 і R^3 можуть бути однаковими або різними і кожен представляє гідроксильну групу, аміногрупу або -OZ (де Z представляє лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-4 атоми вуглецю).

6. Фармацевтична композиція згідно з пунктом 1 або 2, що містить сполуку формули (I), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль, в якій A представляє феніл,

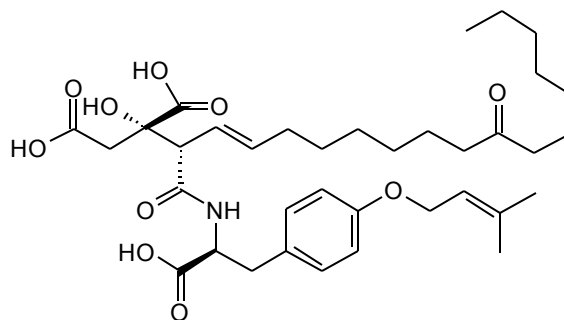
заміщений -OX в положенні 4, X представляє атом водню, лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-8 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю, B представляє оксогрупу, гідроксильну групу або =N-OR⁶, і R^1 , R^2 і R^3 можуть бути однаковими або різними і кожен представляє гідроксильну групу або -OZ (де Z представляє лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-4 атоми вуглецю).

7. Фармацевтична композиція згідно з пунктом 6, що містить сполуку формули (I), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль, в якій X представляє лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-8 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю, B представляє оксогрупу або гідроксильну групу, і R^1 , R^2 і R^3 кожен представляє гідроксильну групу.

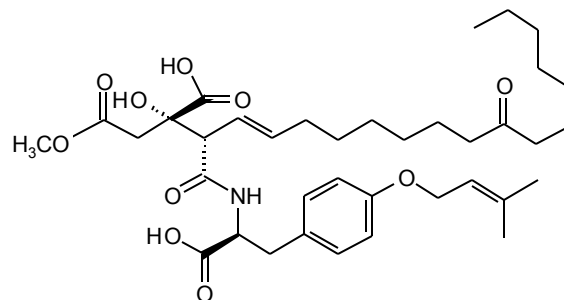
8. Фармацевтична композиція згідно з пунктом 1 або 2, що містить сполуку формули (I), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль, в якій A представляє 3-індоліл.

9. Фармацевтична композиція згідно з пунктом 8, що містить сполуку формули (I), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль, в якій B представляє оксогрупу або гідроксильну групу, і R^1 , R^2 і R^3 кожен представляє гідроксильну групу.

10. Фармацевтична композиція згідно з пунктом 1 або 2, що містить сполуку формули (I), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль, яку вибирають зі сполук, приведених нижче:



No.1,

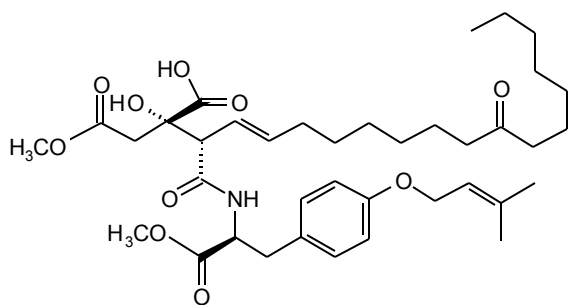


No.2,

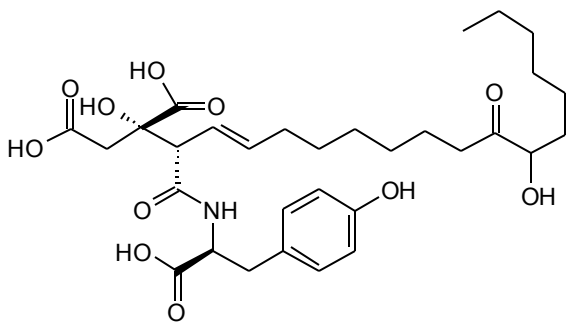
5

80742

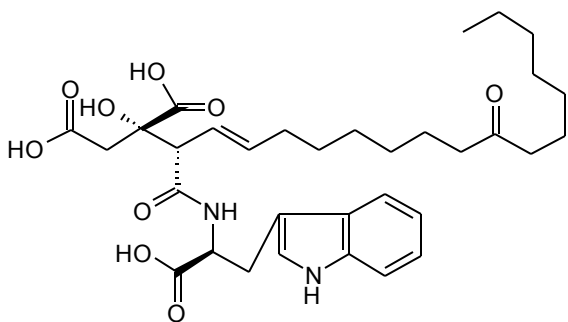
6



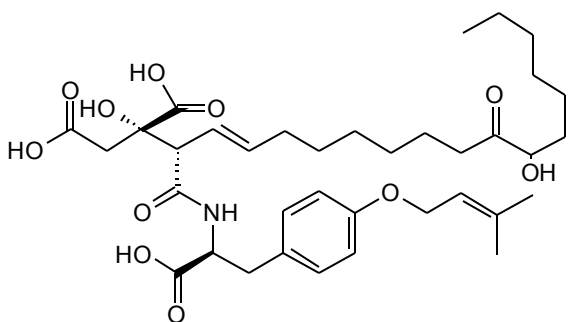
No.3,



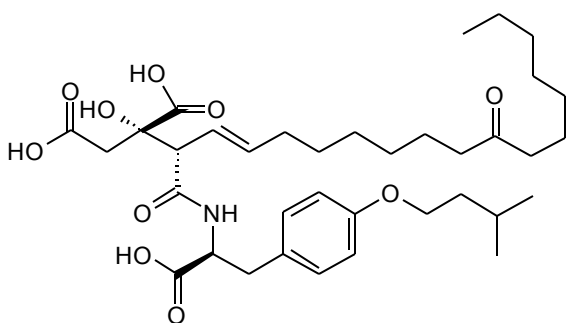
No.4,



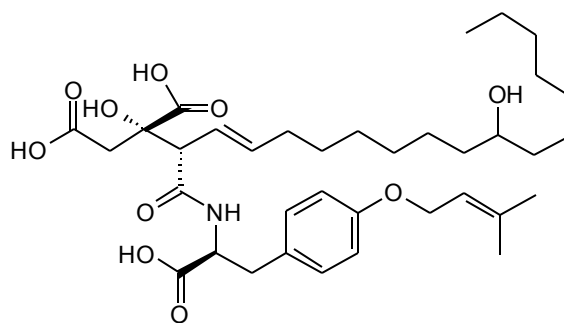
No.5,



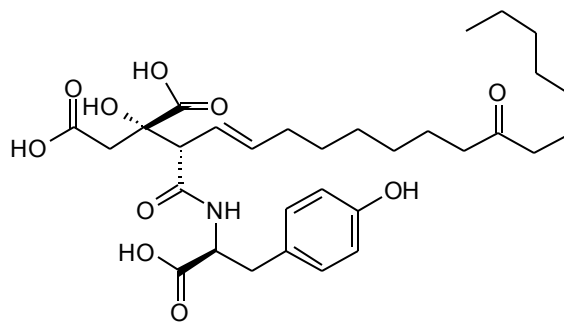
No.6,



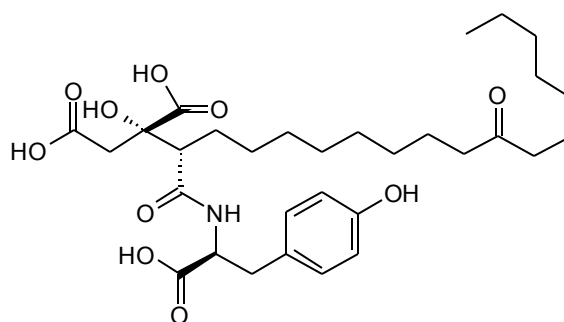
No.7,



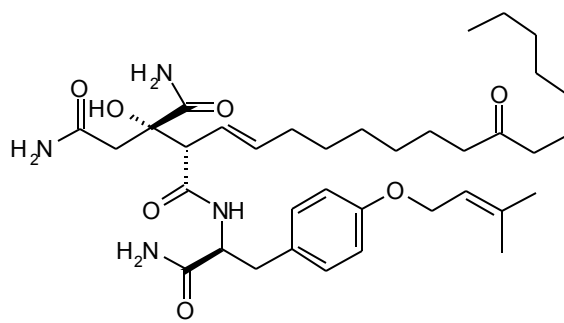
No.8,



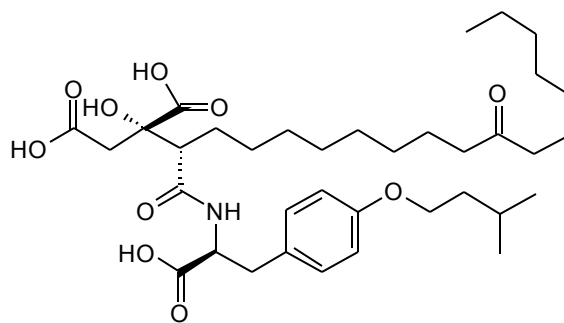
No.9,



No.10,

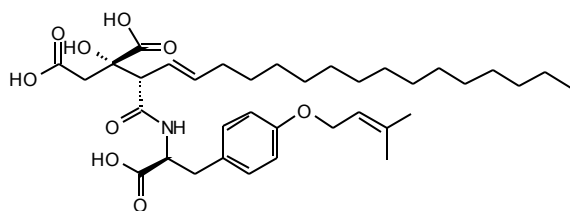


No.11,

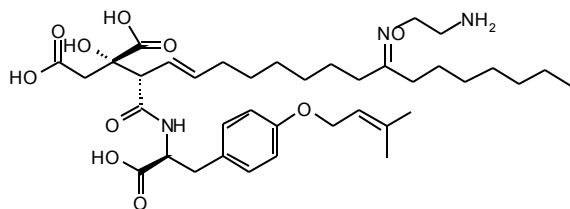


No.12,

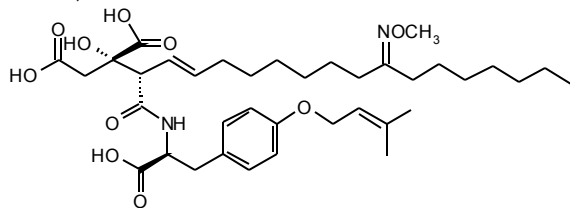
7



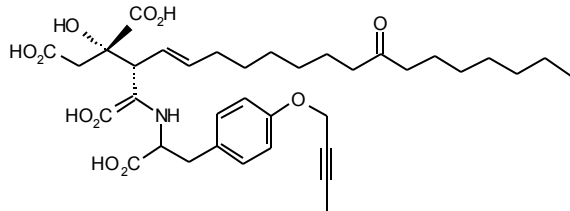
No.13,



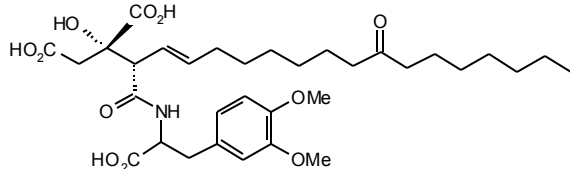
No.14,



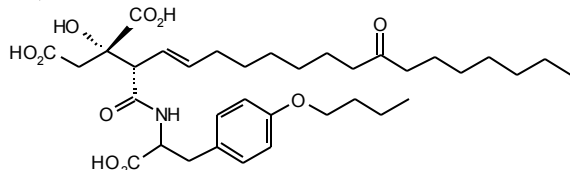
No.15,



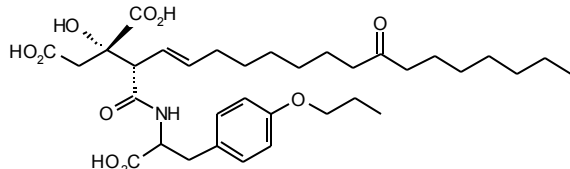
21,



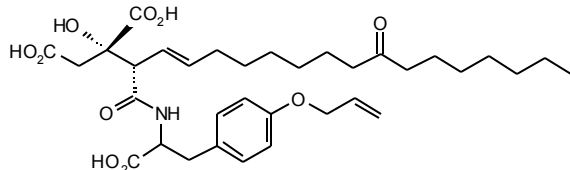
22,



23,



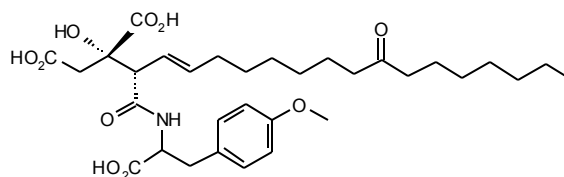
24,



25,

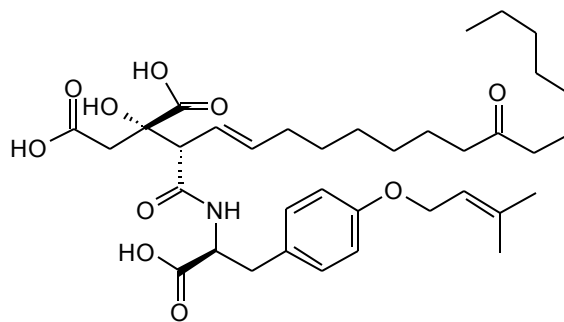
80742

8

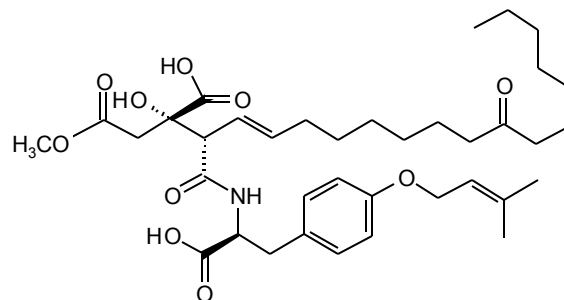


26.

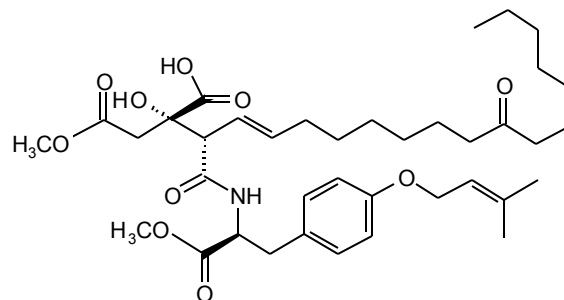
11. Фармацевтична композиція згідно з пунктом 1 або 2, що містить сполуку формули (I), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль, яку вибирають зі сполук, приведених нижче:



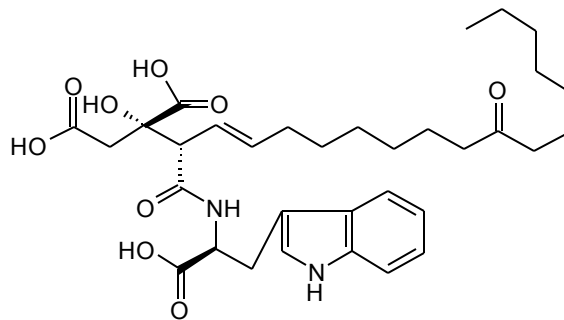
No.1,



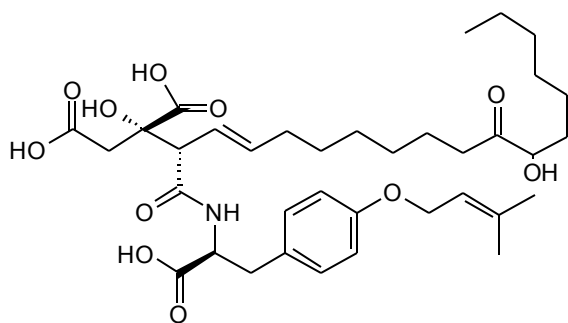
No.2,



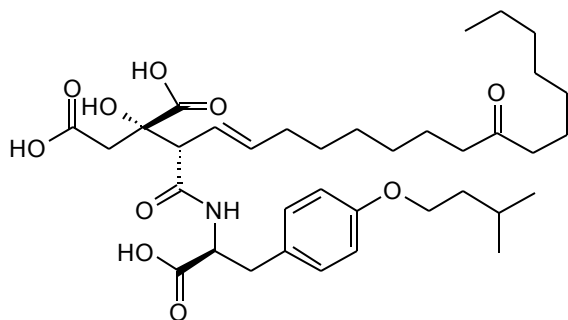
No.3,



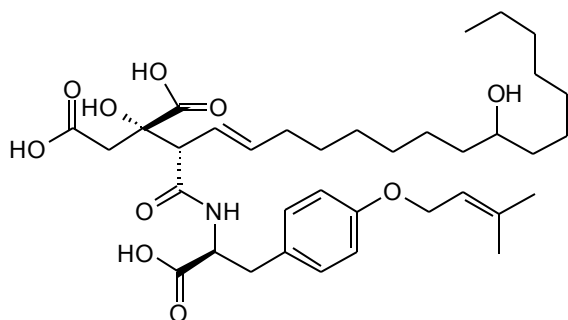
No.5,



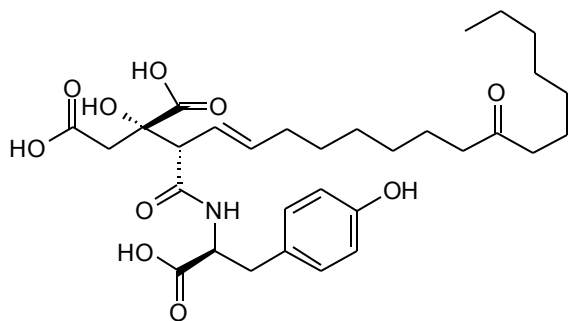
No.6,



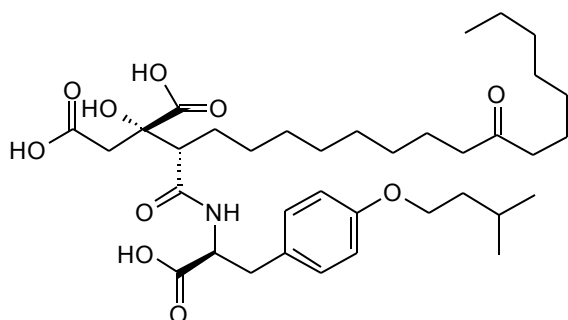
No.7,



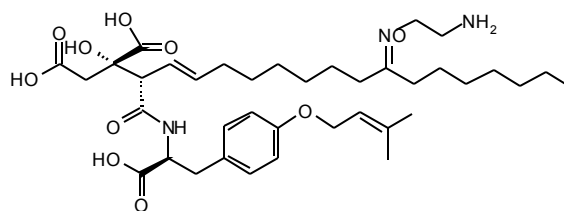
No.8,



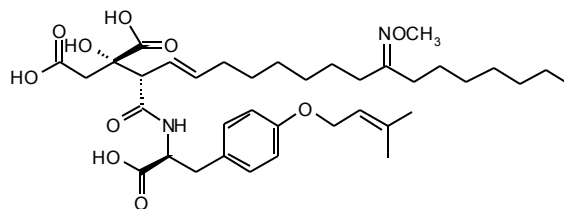
No.9,



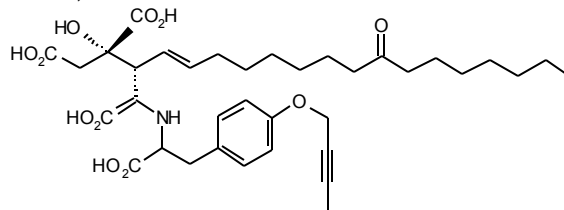
No.12,



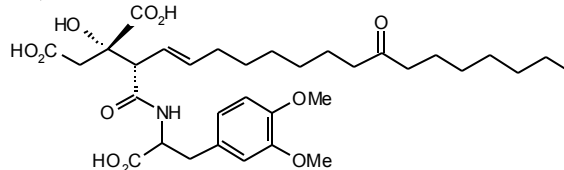
No.14,



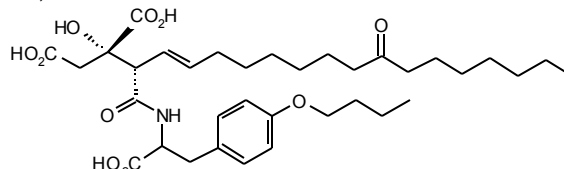
No.15,



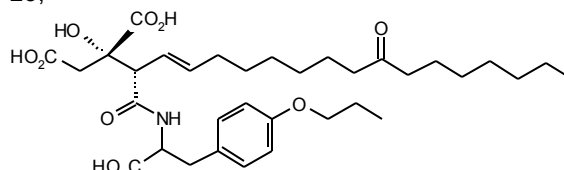
21,



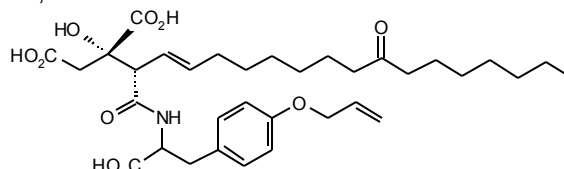
22,



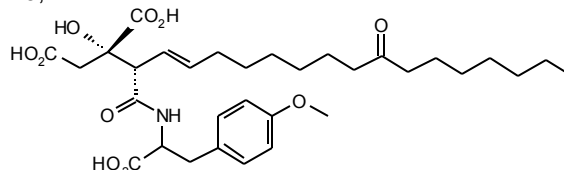
23,



24,



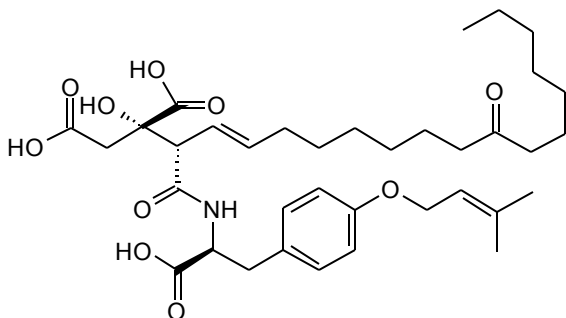
25,



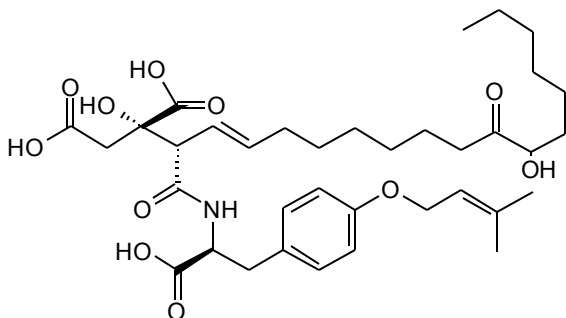
26.

12. Фармацевтична композиція згідно з пунктом 1 або 2, що містить сполуку формули (I), II

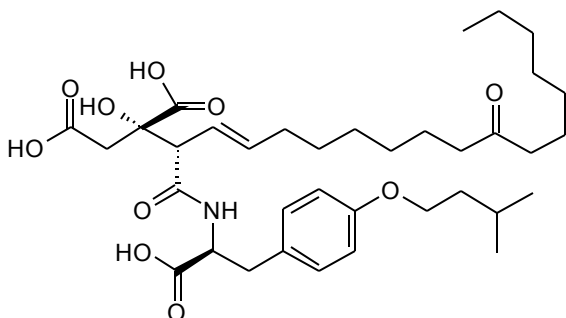
пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль, яку вибирають зі сполук, приведених нижче:



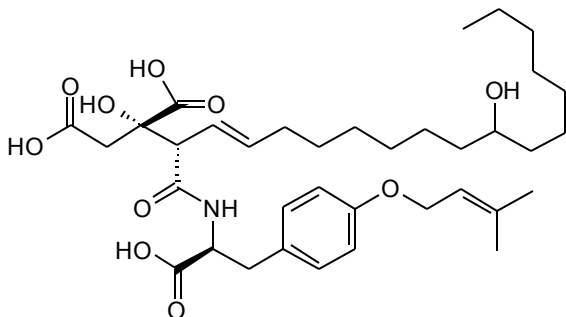
No.1,



No.6,



No.7,

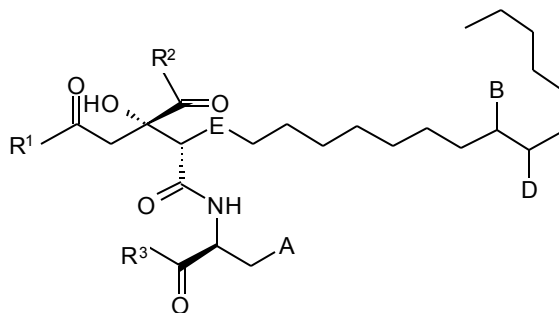


No.8.

13. Фармацевтична композиція згідно з будь-яким з пунктів 1-12, де вірусним інфекційним захворюванням є ВГС.

14. Фармацевтична композиція згідно з пунктом 13, де ВГС є вірус гепатиту С.

15. Сполука, що представлена наступною загальною формулою (I):



(в якій

A представляє феніл, заміщений -OX;

X представляє атом водню, лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-8 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю;

B представляє атом водню, гідроксильну групу, оксогрупу, -N(R⁴)(R⁵), =N-OH, =N-OR⁶ або атом галогену;

R⁴ і R⁵ можуть бути однаковими або різними і кожен представляє атом водню, лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-6 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-6 атомів вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-6 атомів вуглецю, або R⁴ і R⁵ разом представляють 3-8 членне кільце;

R⁶ представляє лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-8 атомів вуглецю (яка може бути заміщена аміногрупою, яка може бути моно- або дизаміщеною лінійною або розгалуженою алкільною групою, що має 1-4 атоми вуглецю);

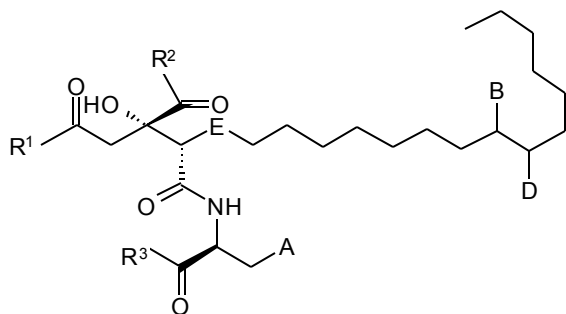
D представляє атом водню або гідроксильну групу; зв'язок E представляє простий зв'язок або подвійний зв'язок;

R¹, R² і R³ можуть бути однаковими або різними і кожен представляє атом водню, гідроксильну групу, аміногрупу (яка може бути моно- або дизаміщеною лінійною або розгалуженою алкільною групою, що має 1-4 атоми вуглецю), -OZ, лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-4 атоми вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю; і

Z представляє лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-4 атоми вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю, за умови, що виключений випадок, в якому A є феніл, заміщений -OX в п-положенні, X є 2-ізопентенільною групою або атом водню, B є оксогрупою, D є атомом водню, E представляє подвійний зв'язок, і всі з R¹-R³ є гідроксильними групами, і випадок, в якому A є феніл, заміщений -OX в п-положенні, X є 2-ізопентенільною групою, B є оксогрупою, D є атомом водню, зв'язок E представляє подвійний зв'язок, і всі з R¹-R³ є метоксигрупами),

її пролікарська форма або її фармацевтично прийнятна сіль.

16. Сполука, що представлена наступною загальною формулою (I):



(в якій

A представляє феніл, заміщений -OX;

X представляє атом водню, лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-8 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю;

B представляє атом водню, гідроксильну групу, оксогрупу, -N(R⁴)(R⁵), =N-OH, =N-OR⁶ або атом галогену;

R⁴ і R⁵ можуть бути однаковими або різними і кожен представляє атом водню, лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-6 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-6 атомів вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-6 атомів вуглецю, або R⁴ і R⁵ разом представляють 3-8-членне кільце;

R⁶ представляє лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-8 атомів вуглецю (яка може бути заміщена аміногрупою, яка може бути моно- або дизаміщеною лінійною або розгалуженою алкільною групою, що має 1-4 атоми вуглецю);

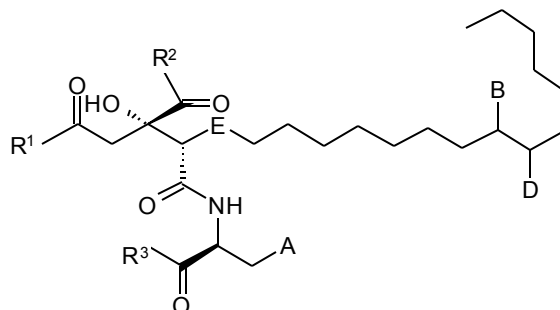
D представляє атом водню або гідроксильну групу; зв'язок E представляє простий зв'язок або подвійний зв'язок;

R¹, R² і R³ можуть бути однаковими або різними і кожен представляє атом водню, гідроксильну групу, аміногрупу (яка може бути моно- або дизаміщеною лінійною або розгалуженою алкільною групою, що має 1-4 атоми вуглецю), -OZ, лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-4 атоми вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю; і

Z представляє лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-4 атоми вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю, за умови, що виключений випадок, в якому A є феніл, заміщений -OX в п-положенні, і X є атомом водню, і випадок, в якому A є феніл, заміщений -OX в п-положенні, X є 2-ізопентенільною групою, B є оксогрупою, D є атомом водню, зв'язок E означає подвійний зв'язок, і всі з R-R³ є гідроксильними групами або метоксигрупами),

її пролікарська форма або її фармацевтично прийнятна сіль.

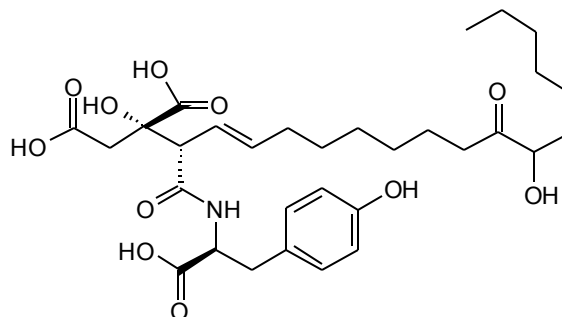
17. Сполука формули (I) згідно з пунктом 15 або 16, що представлена наступною загальною формулою (I'), її пролікарська форма або її фармацевтично прийнятна сіль:



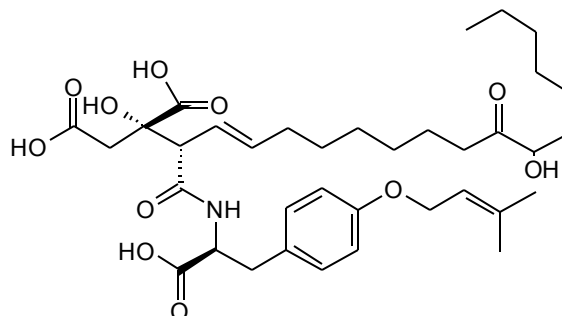
(в якій A, B, D, зв'язок E, R¹, R² і R³ є такими ж, як описано в пункті 15).

18. Сполука формули (I) згідно з пунктами 15-17, її пролікарська форма або її фармацевтично прийнятна сіль, в якій X представляє лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-8 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю, і B представляє гідроксильну групу, оксогрупу або =N-OR⁶.

19. Сполука формули (I) згідно з будь-яким з пунктів 15-18, що представлена наступною формулою, її пролікарська форма або її фармацевтично прийнятна сіль:

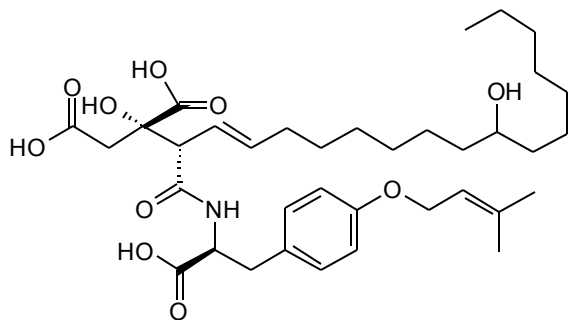


No.4,

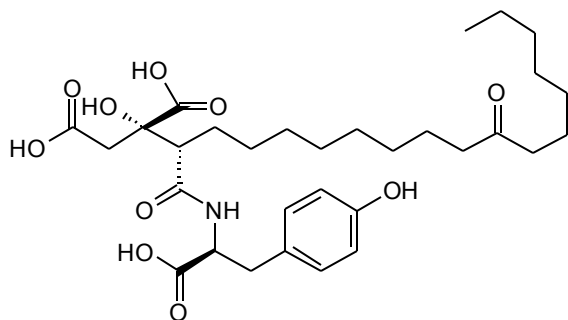


No.6,

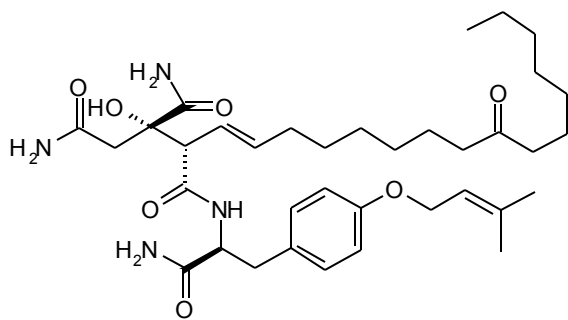
15



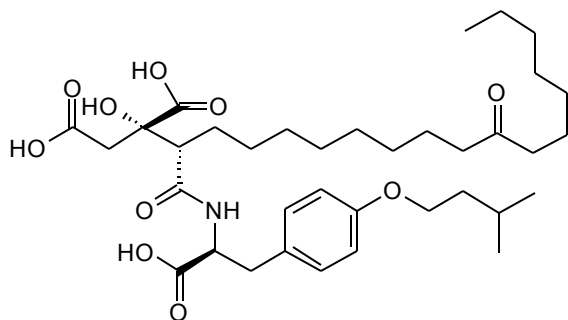
No.8,



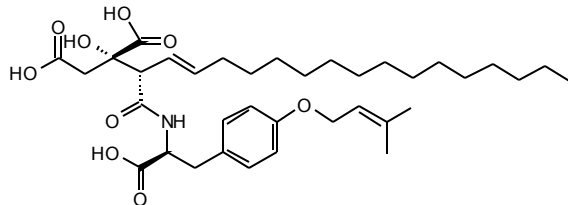
No.10,



No.11,



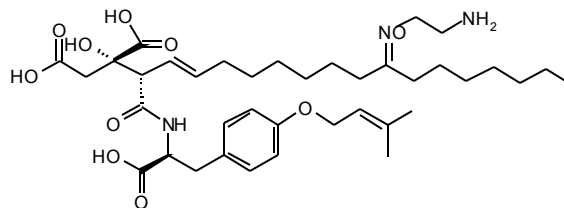
No.12,



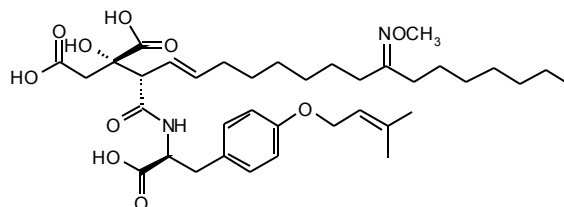
No.13,

80742

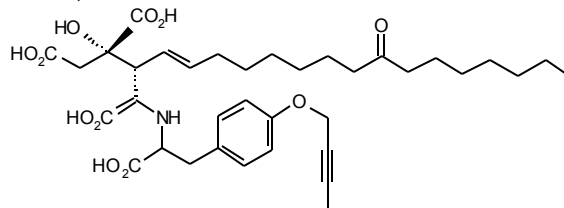
16



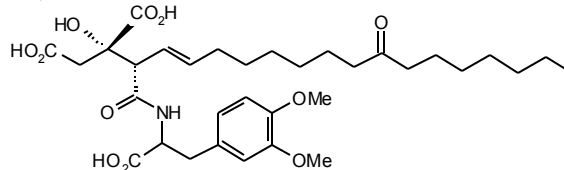
No.14,



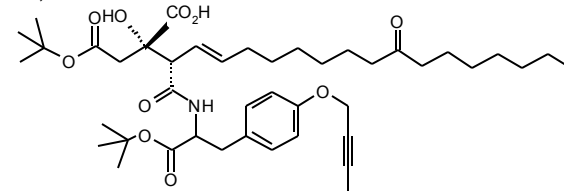
No.15,



21,

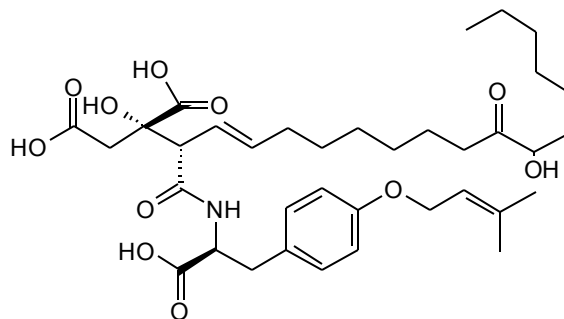


22,

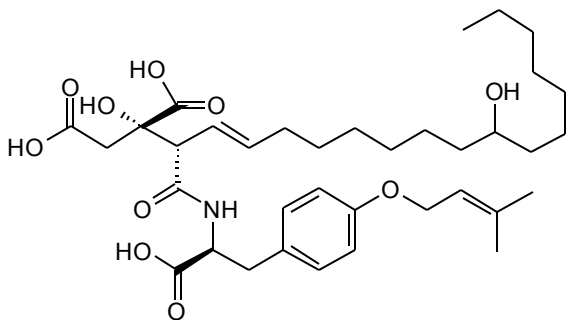


п.

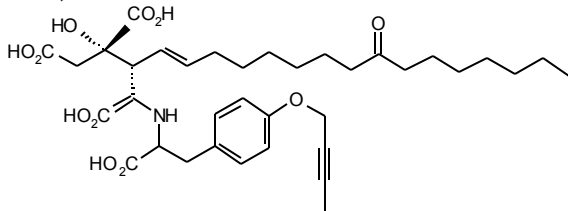
20. Сполука формули (I) згідно з будь-яким з пунктів 15-18, що представлена наступною формулою, її пролікарська форма або її фармацевтично прийнятна сіль:



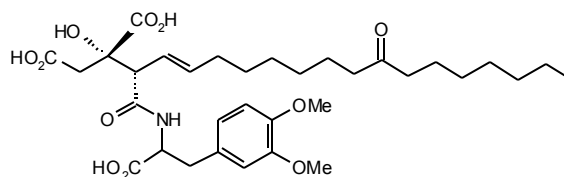
No.6,



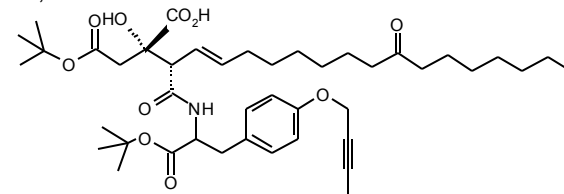
No.8,



21,



22,



n.

21. Фармацевтична композиція, що містить сполуку формули (I) згідно з будь-яким з пунктів 15-20, її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль.

22. Фармацевтична композиція згідно з пунктом 21 для профілактики або лікування вірусних інфекційних захворювань.

23. Фармацевтична композиція згідно з пунктом 22, де вірусним інфекційним захворюванням є ВГС.

24. Фармацевтична композиція згідно з пунктом 23, де ВГС є вірус гепатиту С.

Представлений винахід стосується фармацевтичної композиції для профілактики і лікування захворювань викликаних вірусними інфекціями, і зокрема ВГС.

У світі 100-200 мільйонів осіб інфіковано вірусом гепатиту С (ВГС) і як припускають більше ніж 2 мільйони інфікованих проживає в Японії. У приблизно 50% з цих пацієнтів розвивається хронічний гепатит, у приблизно 20% з цих пацієнтів розвивається цироз і рак печінки протягом тридцяти років або більше після інфікування. У приблизно 90% випадків рак печінки викликається згаданим гепатитом С. В Японії, більше ніж 20000 пацієнтів кожен рік помирають від раку печінки, що є наслідком інфікування ВГС.

ВГС був відкритий у 1989 як первинний каузальний вірус не-А, не-В гепатиту після переливання. ВГС є РНК вірусом, що має оболонку, і його геном складається з однієї ниткової (+) РНК. Він класифікується як гепатитовірус що належить до родини Flavivirus.

Оскільки ВГС ігнорується імунною системою хазяїна по причині, які досі ще не зрозумілі, відомо багато випадків, в яких інфікування відбувалось навіть коли інфікування вірусом відбувалось у дорослих з розвиненою імунною системою. Він потім розвивається у хронічний гепатит, цироз і рак печінки, і відома велика кількість пацієнтів, у яких рак печінки рецидивував внаслідок запалення, що мало місце в не-ракових місцях навіть, якщо рак видалявся хірургічно.

Відповідно, бажаним є розвиток ефективних методів лікування гепатиту С і окремо від носотропічних методів, які пригнічують запалення шляхом використання протизапальних лікарських

засобів, і особливо сильним суспільним бажанням є розробка лікарського засобу, що здатен зменшувати або викорінювати ВГС в уражених місцях печінки.

На сьогоднішній день, тільки лікування інтерфероном є відомим способом лікування, що є ефективним при викорінненні ВГС. Однак, інтерферон є ефективним тільки у третій частини всіх пацієнтів. Ефективність інтерферону, зокрема, проти ВГС генотипу 1b є надзвичайно низькою. Таким чином, дуже бажаною є розробка проти-ВГС лікарського засобу, що може бути використаний замість або в комбінації з інтерфероном.

В останні роки, хоча рібавірин (1-β-D-рібофуранозил-1H-1,2,4-триазол-3-карбоксамід) є комерційно доступним як терапевтичний лікарський засіб для лікування гепатиту С з супутнім використанням з інтерфероном, його ефективність залишається низькою, і ведеться пошук нових терапевтичних лікарських засобів для лікування гепатиту С. Крім того, хоча робляться спроби знищити вірус шляхом підвищення імунітету пацієнта через використання агоністів інтерферону, агоністів інтерлейкіну-12 і т.і., ефективних засобів не знайдено досі.

З моменту клонування гену ВГС, хоча молекулярно біологічні методи аналізу розвиваються дуже швидко, механізми і функціонування генів вірусів і функціонування різних вірусних протеїнів, механізми, що включають реплікацію вірусу в клітині хазяїні, тривале інфікування, патогенність і т.і., ще не повністю висвітлені. На даний час, не розроблені надійні системи тестування інфікування ВГС, що використовують культивовані клітини. Таким

чином, все ще існує необхідність використання методів дослідження з заміною вірусу, що використовують інші подібні віруси, при оцінці анти-ВГС лікарських засобів.

Однак, в останні роки стало можливим спостерігати реплікацію ВГС *in vitro* використовуючи не-структурні частини домену ВГС. Як наслідок, анти-ВГС лікарські засоби зараз можна легше оцінити за допомогою методу реплікаційного дослідження [Непатентний документ 1]. Механізм реплікації РНК ВГС в цій системі є таким же самим як реплікація повнодовжинного геному РНК ВГС, що викликає інфікування гепатоцитів. Таким чином, ця система може бути згадана як система дослідження, що базується на клітинах корисних для ідентифікування сполук, що інгібують реплікацію ВГС.

Сполуки заявлені в представленому винаході є сполуками, які інгібують реплікацію ВГС, що було встановлено використовуючи згаданий вище метод дослідження реплікони. Ці інгібітори розглядаються як високоймовірні безпечні лікарські засоби для лікування ВГС.

Непатентний документ 1:

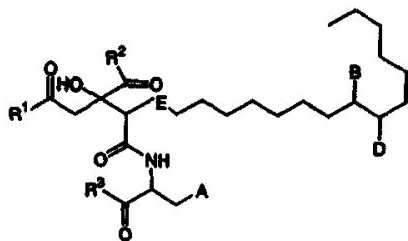
[V. Lohmann, et al., ed., Science, 1999, Vol. 285, p.110-113]

Предметом представленого винаходу є забезпечення фармацевтичної композиції для профілактики і лікування захворювань печінки викликає вірусними інфекціями і, зокрема, ВГС.

Завдяки раніше проведеним дослідженням по вирішенню згаданої вище проблеми, винахідники даного винаходу встановили, що сполуки представленого винаходу мають надзвичайно сильну анти-ВГС реплікаційну активність результатом якої є інгібування проліферації ВГС, наявність тільки помірної цитотоксичності *in vitro* і надзвичайна користь як анти-ВГС проофілактичного/терапевтичного агенту, що таким чином є об'єктом представленого винаходу.

Тобто, представлений винахід забезпечує наступне (1)-(3).

(1) Фармацевтичну композицію для профілактики або лікування вірусних інфекційних захворювань, таких як ВГС, що містить сполуку представлену наступною загальною формулою (I):



(в якій

A представляє феніл заміщений -OX або 3-індоліл;

X представляє атом водню, лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-8 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю, або лінійну або

розгалужену алкінільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю;

B представляє атом водню, гідроксильну групу, оксогрупу, -N(R⁴)(R⁵), =N-OH, =N-OR⁶ або атом галогену;

R⁴ і R⁵ можуть бути однаковими або різними і кожен представляє атом водню, лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-6 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-6 атомів вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-6 атомів вуглецю, або R⁴ і R⁵ разом представляють 3-8 членне кільце (наприклад, піперазинове, піролідинове, піперидинове, морфолінове або гексаметиленімінове кільце);

R⁶ представляє лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-8 атомів вуглецю (яка може бути заміщена аміногрупою, яка може бути моно- або ди-заміщеною лінійною або розгалуженою алкільною групою, що має 1-4 атоми вуглецю);

D представляє атом водню або гідроксильну групу;

E представляє простий зв'язок або подвійний зв'язок;

R¹, R² і R³ можуть бути однаковими або різними і кожен представляє атом водню, гідроксильну групу, аміногрупу (яка може бути моно- або ди-заміщеною лінійною або розгалуженою алкільною групою, що має 1 - 4 атоми вуглецю), -OZ, лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-4 атоми вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю; і,

Z представляє лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-4 атоми вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль.

(2) Сполуку представлену приведеною вище загальною формулою (I) (в якій кожен з символів у формулі має ті ж самі значення як показано в згаданій вище загальній формулі (I), за умови, що виключаються випадок, в якому A є 3-індоліл, випадок, в якому A є феніл заміщений -OX в п-положенні, X є 2-ізопентенільною групою або атом водню, B є оксогрупою, D є атомом водню, зв'язок E представляє подвійний зв'язок, і всі з R¹-R³ є гідроксильними групами, і випадок, в якому A є феніл заміщений -OX в п-положенні, X є 2-ізопентенільною групою, B є оксогрупою, D є атомом водню, E представляє подвійний зв'язок, і всі з R¹-R³ є метоксигрупами), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль.

(3) Сполуку представлену приведеною вище загальною формулою (I) (в якій кожен з символів у формулі має ті ж самі значення як показано в згаданій вище загальній формулі (I), за умови, що виключаються випадок, в якому A є 3-індоліл, випадок, в якому A є феніл заміщений -OX в п-положенні і X є атомом водню, і випадок, в якому A є феніл заміщений -OX в п-положенні, X є 2-ізопентенільною групою, B є оксогрупою, D є

атомом водню, зв'язок Е представляє подвійний зв'язок, і всі з R^1 - R^3 є гідроксильними групами або метоксигрупами), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль.

Далі приводиться більш детальне розкриття фармацевтичної композиції для профілактики і/або лікування захворювань викликаних вірусними інфекціями, такими як ВГС, представленого винаходу.

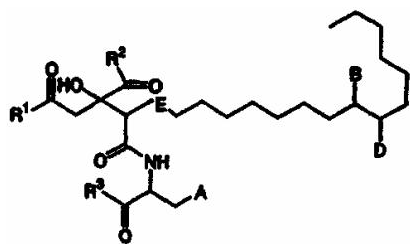
Слід відзначити, що термін "лікування", який використовується в представленому описі включає викоринення або зменшення ВГС шляхом введення фармацевтичної композиції представленого винаходу суб'єктові, що тестується, супресії подальшої проліферації ВГС і полегшення симптомів викликаних інфікуванням ВГС. Прикладами симптомів викликаних інфікуванням ВГС є гепатит С, цироз, фіброз печінки і рак печінки, і переважно гепатит С

Крім того, вираз - лінійні або розгалужені алкенільні групи, що мають 2-8 атомів вуглецю, що використовується в представленому описі стосується лінійних або розгалужених вуглеводневих груп, що мають 2-8 атомів вуглецю і які містять, принаймні, один подвійний зв'язок. Крім того, вираз - лінійні або розгалужені алкінільні групи, що мають 2-8 атомів вуглецю, що використовується в представленому описі стосується лінійних або розгалужених вуглеводневих груп, що мають 2-8 атомів вуглецю і які містять, принаймні, один потрійний зв'язок.

"Пролікарська форма" представленого винаходу стосується похідної сполуки формули (I), що перетворюється у сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль під дією фізіологічних умов або завдяки сольволізу. Хоча пролікарська форма може бути інертною, коли вводиться пацієнтові, після попадання в тіло вона перетворюється у активну сполуку формули (I).

Представленим винаходом є те що розкривається далі.

1. Фармацевтична композиція для профілактики або лікування вірусних інфекційних захворювань, що містить сполуку представлену наступною загальною формулою (I):



(в якій

А представляє феніл заміщений -ОХ або 3-індоліл;

Х представляє атом водню, лінійну або розгалужену алкілну групу, що має 1-8 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінілну групу, що має 2-8 атомів вуглецю;

В представляє атом водню, гідроксильну групу, оксогрупу, $-N(R^4)(R^5)$, $=N-OH$, $=N-OR^6$ або атом галогену;

R^4 і R^5 можуть бути однаковими або різними і кожен представляє атом водню, лінійну або розгалужену алкілну групу, що має 1-6 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-6 атомів вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінілну групу, що має 2-6 атомів вуглецю, або R^4 і R^5 разом представляють 3-8 членне кільце;

R^6 представляє лінійну або розгалужену алкілну групу, що має 1-8 атомів вуглецю (яка може бути заміщена аміногрупою, яка може бути моно- або ди-заміщеною лінійною або розгалуженою алкільною групою, що має 1-4 атоми вуглецю);

D представляє атом водню або гідроксильну групу;

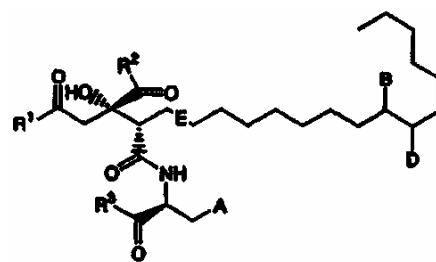
зв'язок Е представляє простий зв'язок або подвійний зв'язок;

R^1 , R^2 і R^3 можуть бути однаковими або різними і кожен представляє атом водню, гідроксильну групу, аміногрупу (яка може бути моно- або ди-заміщеною лінійною або розгалуженою алкільною групою, що має 1-4 атоми вуглецю), -OZ, лінійну або розгалужену алкілну групу, що має 1-4 атоми вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю або лінійну або розгалужену алкінілну групу, що має 2-4 атоми вуглецю; і,

Z представляє лінійну або розгалужену алкілну групу, що має 1-4 атоми вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінілну групу, що має 2-4 атоми вуглецю),

її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль.

2. Фармацевтична композиція згідно із вищезгаданим в 1, що містить сполуку формули (I) згідно із вищезгаданим в 1, що представлена наступною загальною формулою (I), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль:



(в якій А, В, D, зв'язок Е, R^1 , R^2 і R^3 є такими ж як описано у вищезгаданому 1).

3. Фармацевтична композиція згідно із вищезгаданим в 1 або 2, що містить сполуку формули (I), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль, в якій А представляє феніл заміщений -ОХ в положенні 4, Х представляє атом водню, лінійну або розгалужену алкілну групу, що має 1-8 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю або лінійну або

розгалужену алкінільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю.

4. Фармацевтична композиція згідно з будь-яким з вищезгаданих в 1-3, що містить сполуку формули (I), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль, в якій В представляє оксогрупу, атом водню, гідроксильну групу або $=N-OR^6$.

5. Фармацевтична композиція згідно з будь-яким з вищезгаданих в 1-4, що містить сполуку формули (I), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль, в якій R^1 , R^2 і R^3 можуть бути однаковими або різними і кожен представляє гідроксильну групу, аміногрупу, або -OZ (де Z представляє лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-4 атоми вуглецю).

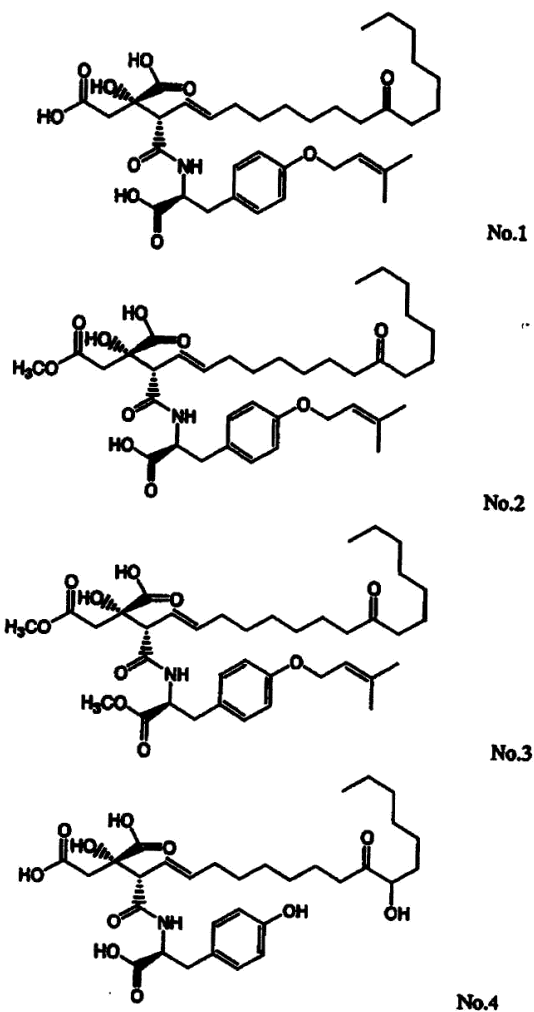
6. Фармацевтична композиція згідно із вищезгаданим в 1 або 2, що містить сполуку формули (I), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль, в якій А представляє феніл заміщений -OX в положенні 4, Х представляє атом водню, лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-8 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю, В представляє оксогрупу, гідроксильну групу або $=N-OR^6$, і R^1 , R^2 і R^3 можуть бути однаковими або різними і кожен представляє гідроксильну групу або -OZ (де Z представляє лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-4 атоми вуглецю).

7. Фармацевтична композиція згідно із вищезгаданим в 6, що містить сполуку формули (I), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль, в якій Х представляє лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-8 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю, В представляє оксогрупу або гідроксильну групу, і R^1 , R^2 і R^3 кожен представляє гідроксильну групу.

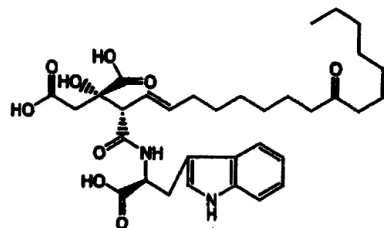
8. Фармацевтична композиція згідно із вищезгаданим в 1 або 2, що містить сполуку формули (I), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль, в якій А представляє 3-індоліл.

9. Фармацевтична композиція згідно із вищезгаданим в 8, що містить сполуку формули (I), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль, в якій В представляє оксогрупу або гідроксильну групу, і R^1 , R^2 і R^3 кожен представляє гідроксильну групу.

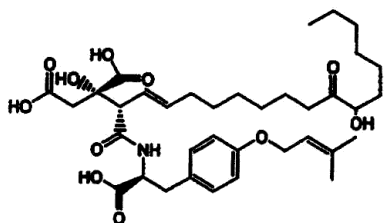
10. Фармацевтична композиція згідно із вищезгаданим в 1 або 2, що містить сполуку формули (I), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль, яку вибирають з сполуки приведеної нижче.



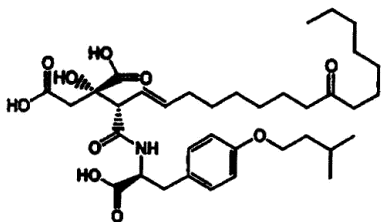
25



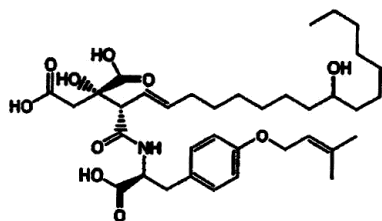
No.5



No.6



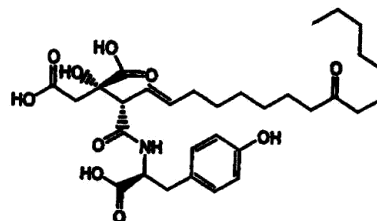
No.7



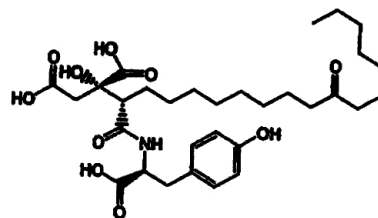
No.8

80742

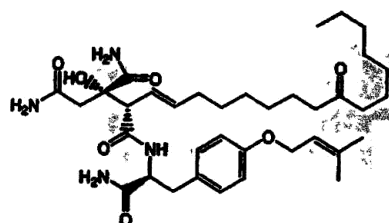
26



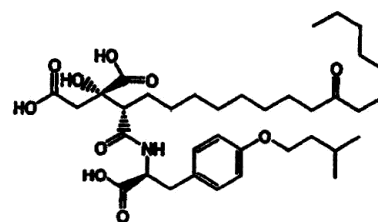
No.9



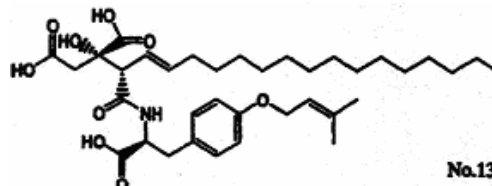
No.10



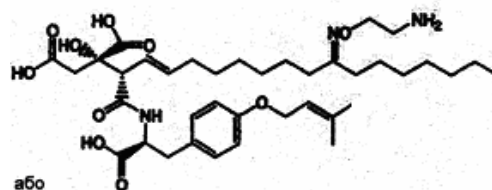
No.11



No.12

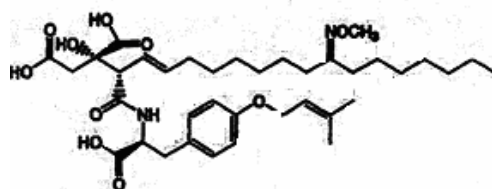


No.13



або

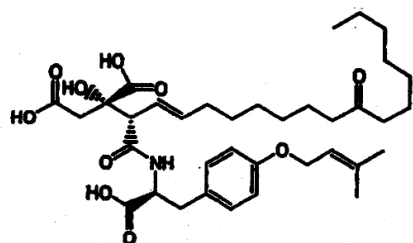
No.14



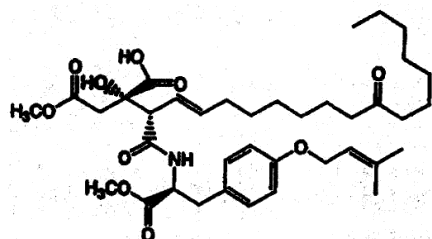
No.15

11. Фармацевтична композиція згідно із вищезгаданим в 1 або 2, що містить сполуку формули (I), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль, яку вибирають з сполуки приведеної нижче.

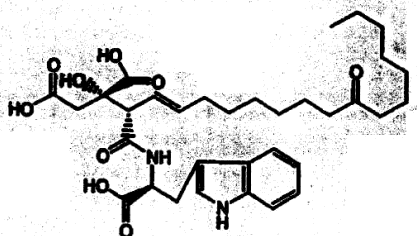
27



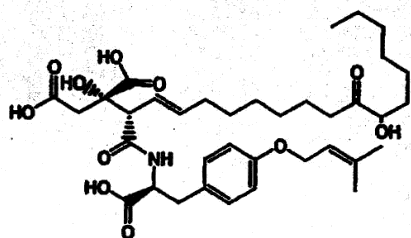
No.1



No.3



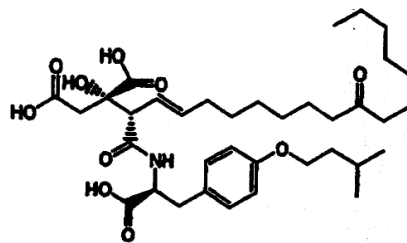
No.5



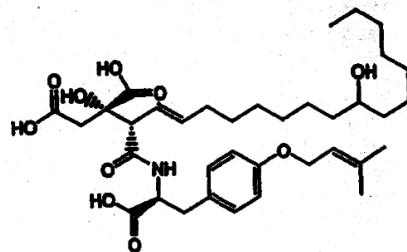
No.6

80742

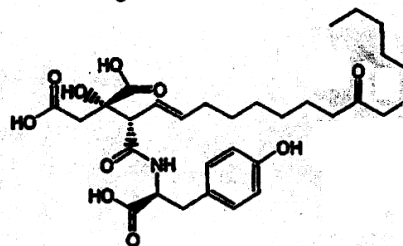
28



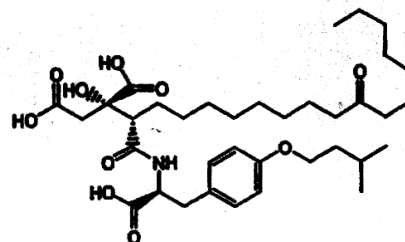
No.7



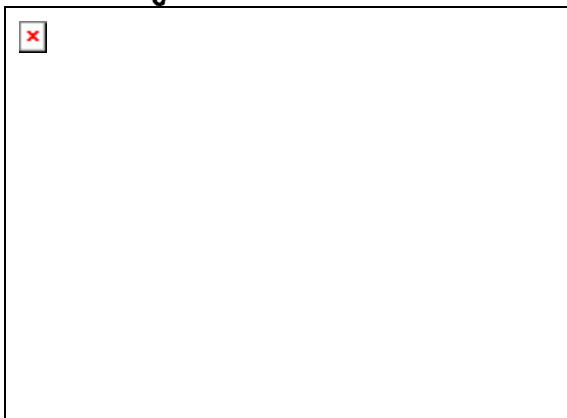
No.8



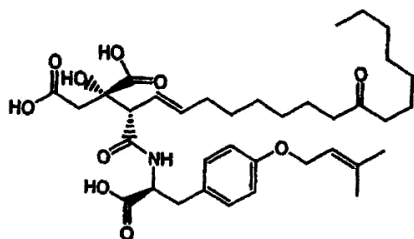
No.9



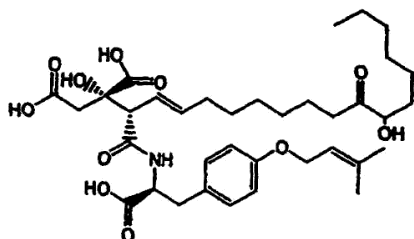
No.12



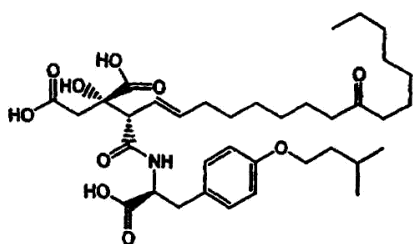
12. Фармацевтична композиція згідно із вищезгаданим в 1 або 2, що містить сполуку формули (i), її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль, яку вибирають з сполук приведеної нижче.



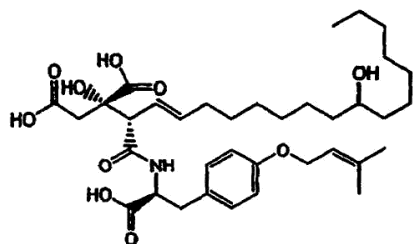
No.1



No.6



No.7

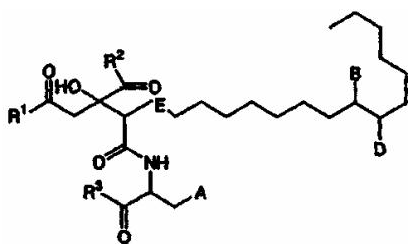


No.8

13. Фармацевтична композиція згідно з будь-яким вищеприведеним 1-12, де вірусним інфекційним захворюванням є ВГС.

14. Фармацевтична композиція згідно з вищеприведеним в 13, де ВГС є вірус гепатиту С.

15. Сполука, що представлена наступною загальною формулою (I):



(в якій

A представляє феніл заміщений -OX;

X представляє атом водню, лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-8 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю;

B представляє атом водню, гідроксильну групу, оксогрупу, -N(R⁴)(R⁵), =N-OH, =N-OR⁶ або атом галогену;

R⁴ і R⁵ можуть бути однаковими або різними і кожен представляє атом водню, лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-6 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-6 атомів вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-6 атомів вуглецю, або R⁴ і R⁵ разом представляють 3-8 членне кільце;

R⁶ представляє лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-8 атомів вуглецю (яка може бути заміщена аміногрупою, яка може бути моно- або ди-заміщеною лінійною або розгалуженою алкільною групою, що має 1-4 атоми вуглецю);

D представляє атом водню або гідроксильну групу;

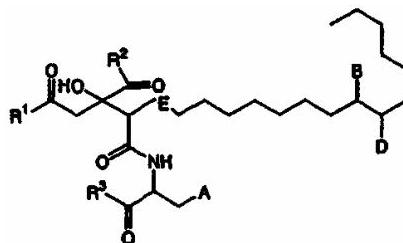
зв'язок E представляє простий зв'язок або подвійний зв'язок;

R¹, R² і R³ можуть бути однаковими або різними і кожен представляє атом водню, гідроксильну групу, аміногрупу (яка може бути моно- або ди-заміщеною лінійною або розгалуженою алкільною групою, що має 1-4 атоми вуглецю), -OZ, лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-4 атоми вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю; і,

Z представляє лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-4 атоми вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю, за умови, що виключений випадок, в якому A є феніл заміщений -OX в п-положенні, X є 2-ізопентенільною групою або атом водню, B є оксогрупою, D є атомом водню, E представляє подвійний зв'язок, і всі з R¹-R³ є гідроксильними групами, і випадок, в якому A є феніл заміщений -OX в п-положенні, X є 2-ізопентенільною групою, B є оксогрупою, D є атомом водню, зв'язок E представляє подвійний зв'язок, і всі з R¹-R³ є метоксигрупами)

її пролікарська форма або її фармацевтично прийнятна сіль.

16. Сполука, що представлена наступною загальною формулою (I):



(в якій

A представляє феніл заміщений -OX;

X представляє атом водню, лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-8 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю;

В представляє атом водню, гідроксильну групу, оксогрупу, $-N(R^4)(R^5)$, $=N-OH$, $=N-OR^6$ або атом галогену;

R^4 і R^5 можуть бути однаковими або різними і кожен представляє атом водню, лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-6 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-6 атомів вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-6 атомів вуглецю, або R^4 і R^5 разом представляють 3-8 членне кільце;

R^6 представляє лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-8 атомів вуглецю (яка може бути заміщена аміногрупою, яка може бути моно- або ди-заміщеною лінійною або розгалуженою алкільною групою, що має 1-4 атоми вуглецю);

D представляє атом водню або гідроксильну групу;

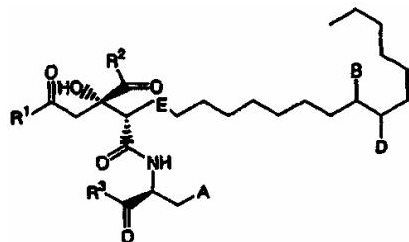
зв'язок E представляє простий зв'язок або подвійний зв'язок;

R^1 , R^2 і R^3 можуть бути однаковими або різними і кожен представляє атом водню, гідроксильну групу, аміногрупу (яка може бути моно- або ди-заміщеною лінійною або розгалуженою алкільною групою, що має 1-4 атоми вуглецю), $-OZ$, лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-4 атоми вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю; і,

Z представляє лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-4 атоми вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю, або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-4 атоми вуглецю, за умови, що виключений випадок, в якому A є феніл заміщений $-OX$ в п-положенні і X є атомом водню, і випадок, в якому A є феніл заміщений $-OX$ в п-положенні, X є 2-ізопентенільною групою, B є оксогрупою, D є атомом водню, зв'язок E означає подвійний зв'язок, і всі з R^1 - R^3 є гідроксильними групами або метоксигрупами),

її пролікарська форма або її фармацевтично прийнятна сіль.

17. Сполука формули (I) згідно із вищезгаданим в 15 або 16, що представлена наступною загальною формулою (I'), її пролікарська форма або її фармацевтично прийнятна сіль:

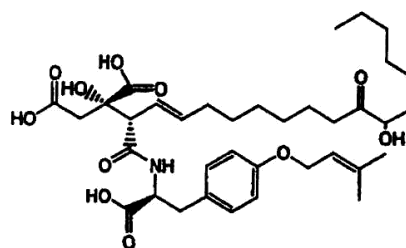


(в якій A, B, D, зв'язок E, R^1 , R^2 і R^3 є такими ж як описано у вищезгаданому 15).

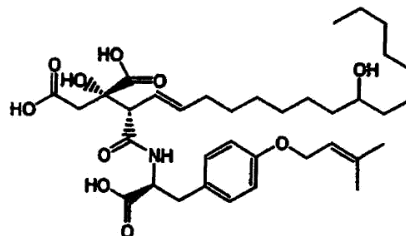
18. Сполука формули (I) згідно із вищезгаданим в 15-17, її пролікарська форма або її фармацевтично прийнятна сіль, в якій X

представляє лінійну або розгалужену алкільну групу, що має 1-8 атомів вуглецю, лінійну або розгалужену алкенільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю або лінійну або розгалужену алкінільну групу, що має 2-8 атомів вуглецю, і B представляє гідроксильну групу, оксогрупу або $=N-OR^6$.

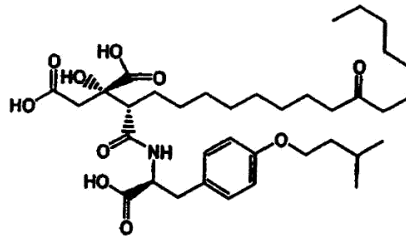
19. Сполука формули (I) згідно з будь-яким із вищезгаданим в 15-18, що представляє сполуку наступної формули, її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль.



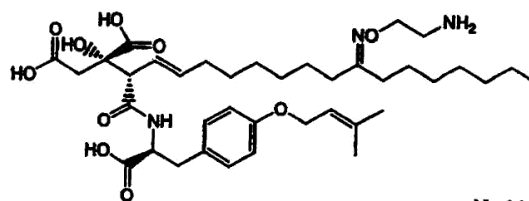
No.6



No.8

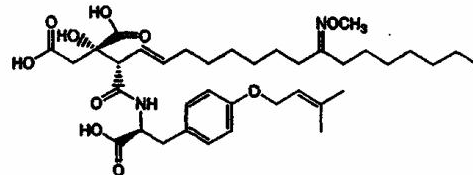


No.12



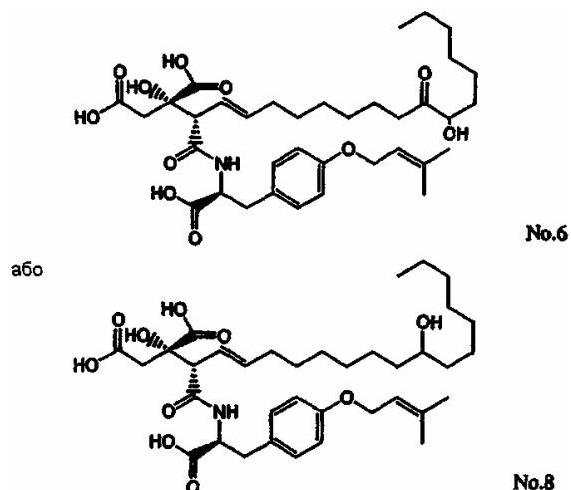
No.14

або



No.15

20. Сполука формули (I) згідно з будь-яким із вищезгаданим в 15-18, що представляє сполуку наступної формули, її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль.



21. Фармацевтична композиція, що містить сполуку формули (I) згідно з будь-яким з вищезгаданим в 15-20, її пролікарську форму або її фармацевтично прийнятну сіль.

22. Фармацевтична композиція згідно із вищезгаданим в 21 для профілактики або лікування вірусних інфекційних захворювань.

23. Фармацевтична композиція згідно із вищезгаданим в 22, де вірусним інфекційним захворюванням є ВГС.

24. Фармацевтична композиція згідно із вищезгаданим в 23, де ВГС є вірус гепатиту С.

В представленому винаході, вираз "лінійна або розгалужена алкільна група, що має 1-8 атомів вуглецю" включає, наприклад, метил, етил, н-пропіл, і-пропіл, н-бутил, в-бутил, і-бутил, т-бутил, н-пентил, 3-метилбутил, 2-метилбутил, 1-метилбутил, 1-етилпропіл, н-гексил, 4-метилпентил, 3-метилпентил, 2-метилпентил, 1-метилпентил, 3-етилбутил, 2-етилбутил і т.і.

В представленому винаході, "лінійна або розгалужена алкенільна група, що має 2-8 атомів вуглецю" включає, наприклад, 1-пропеніл, 2-пропеніл (аліл), пропен-2-іл, 3-бутеніл (гомоаліл), 2-ізопентеніл і т.і.

В представленому винаході, "лінійна або розгалужена алкінільна група, що має 2-8 атомів вуглецю" включає, наприклад, 1-пропініл, 1-бутініл, 2-бутініл і т.і.

В представленому винаході, "атом галогену" означає атом фтору, атом хлору, атом бромю або атом йоду.

В представленому винаході, "лінійна або розгалужена алкільна група, що має 1-6 атомів вуглецю" включає, наприклад, метил, етил, н-пропіл, і-пропіл, н-бутил, в-бутил, і-бутил, т-бутил, н-пентил, 3-метилбутил, 2-метилбутил, 1-метилбутил, 1-етилпропіл, н-гексил, 4-метилпентил, 3-метилпентил, 2-метилпентил, 1-метилпентил, 3-етилбутил, 2-етилбутил і т.і.

В представленому винаході, "лінійна або розгалужена алкенільна група, що має 2-6 атомів вуглецю" включає, наприклад, етеніл (вініл), 1-пропеніл, 2-пропеніл (аліл), пропен-2-іл, 3-бутеніл (гомоаліл), 2-ізопентеніл і т.і.

В представленому винаході, "лінійна або розгалужена алкінільна група, що має 2-6 атомів

вуглецю" включає, наприклад, етиніл, 1-пропініл, 2-пропініл, 1-бутініл, 2-бутініл, 3-бутініл і т.і.

В представленому винаході, "лінійна або розгалужена алкільна група, що має 1-4 атомів вуглецю" включає, наприклад, метил, етил, н-пропіл, і-пропіл, н-бутил, в-бутил, і-бутил, т-бутил і т.і.

В представленому винаході, "лінійна або розгалужена алкенільна група, що має 2-4 атомів вуглецю" включає, наприклад, етеніл (вініл), 1-пропеніл, 2-пропеніл (аліл), пропен-2-іл, 3-бутеніл (гомоаліл) і т.і.

В представленому винаході, "лінійна або розгалужена алкінільна група, що має 2-4 атомів вуглецю" включає, наприклад, 1-пропініл, 1-бутініл, 2-бутініл і т.і.

Вищезгадана Сполука №1 описується в [Міжнародній викладеній заявці опублікованій під № WO 98/56755], і відома як така, що продукується мікроорганізмами, що належать до роду *Aureobasidium*, що має протимікробну активність проти патогенних грибків, таких як *Candida albicans* і *Cryptococcus neoformans*, і діє як інгібітор імунних реакцій. Вищезгадана Сполука №9 описується в [Міжнародній викладеній заявці опублікованій під № WO 94/18157], і відома як інгібітор синтезу сквалену і протигрибковий агент.

Спосіб одержання сполук представленої винаходу: Цю Сполуку №1 можна одержати шляхом культивування штаму нитковидного грибка, що належить до роду *Fusarium* або *Aureobasidium* і тому може продукувати вищезгадану сполуку, з наступним виділенням з культури згаданого вище штаму.

Однак, сполуки представлені загальними формулами (I) і (I') можна одержати за допомогою способів описаних нижче використовуючи вищезгадану Сполуку № 1 як вихідну сполуку.

Спосіб одержання 1: Дигідро форму (E = простий зв'язок, наприклад, Сполука №7) можна одержати шляхом гідрування вищезгаданої Сполуки №1 в розчиннику, такому як метанол, етанол, етилацетат або тетрагідрофуран, в присутності каталізатору, такого як паладій на вугіллі, гідроксид паладію або нікель Ренея, при кімнатній температурі або при нагріванні.

Спосіб одержання 2: Спиртову форму (B = гідроксильна група, наприклад, Сполука №8) можна одержати шляхом відновлення вищезгаданої Сполуки №1 в розчиннику, такому як метанол, етанол, пропанол або тетрагідрофуран, в присутності відновлюючого агента, такого як боргідрид натрію, триметоксиборгідрид натрію, ціаноборгідрид натрію, боргідрид літію, діетилалюмогідрид натрію або алюмогідрид літію, при кімнатній температурі або при охолодженні.

Спосіб одержання 3: Деалкіловану форму (X = водень, наприклад, Сполука №9) можна одержати шляхом обробки вищезгаданої Сполуки №1 в розчиннику, такому як метанол, діоксан, тетрагідрофуран або вода, в присутності хлорводневої кислоти, сірчаної кислоти, метансульфонової кислоти, трифтороцтової кислоти або їм подібних, при кімнатній температурі або при охолодженні. Однак, дигідроформу (E = простий зв'язок і X = водень, наприклад, Сполука

№10) можна одержати шляхом гідрування вищезгаданої Сполуки №9 в розчиннику, такому як метанол, етанол, етилацетат або тетрагідрофуран, в присутності каталізатору, такого як паладій на вугіллі, гідроксид паладію, нікель Ренея або оксид платини, при кімнатній температурі або при нагріванні.

Спосіб одержання 4: Тетраалкілну, тетраалкінілну або тетраалкенілну форму ($X = Z$ = алкіл, алкініл або алкеніл) можна синтезувати шляхом обробки вищезгаданої Сполуки №9 алкілувальним агентом, таким як алкілгалогід, алілгалогід або алкінілгалогід в присутності основи, такої як гідроксид натрію, гідроксид калію, карбонат кальцію або карбонат калію, в розчиннику, такому як диметилформамід (ДМФА) або тетрагідрофуран при кімнатній температурі або при нагріванні. Крім того, алкілну, алкінілну або алкенілну форму (X = алкіл, алкініл або алкеніл, наприклад, Сполука 16, 17, 18, 19 або 20) можна одержати шляхом обробки цієї сполуки в присутності основи, такої як гідроксид натрію, гідроксид калію, карбонат кальцію або карбонат калію, в розчиннику, такому як метанол, діоксан, тетрагідрофуран або вода, при кімнатній температурі або при нагріванні.

Спосіб одержання 5: Вищезгадану Сполуку №1 і різні аміни обробляють конденсувальним агентом, таким як дициклогексилкарбодіїмід (DCC), водорозчинний гідрохлорид карбодіїмиду (WSC-HCl) або 1-гідроксибензотриазол (HOBt) в розчиннику, такому як диметилформамід (ДМФА) або тетрагідрофуран, в присутності основи, такої як дізопропілетиламін або триетиламін, при кімнатній температурі або при нагріванні з утворенням відповідної триамідної форми ($R^1 = R^2 = R^3$ = аміногрупа, наприклад, Сполука №11).

Спосіб одержання 6: Тетрагідроформу (E = простий зв'язок і X = розгалужений алкіл, наприклад, Сполука №12) можна одержати шляхом гідрування вищезгаданої Сполуки №1 в розчиннику, такому як метанол, етанол, етилацетат або тетрагідрофуран, в присутності каталізатору, такого як паладій на вугіллі, гідроксид паладію, нікель Ренея або оксид платини, при кімнатній температурі або при нагріванні.

Спосіб одержання 7: Вищезгадана Сполука №1 взаємодіє з різними спиртами (BOH) при використанні конденсувального агенту, такого як дициклогексилкарбодіїмід (DCC) в розчиннику, такому як тетрагідрофуран, ДМФА або дихлорметан при кімнатній температурі або при нагріванні з утворенням відповідного триестеру ($R^1 = R^2 = R^3 = R$). Альтернативно, триметиловий естер ($R^1 = R^2 = R^3 = CH_3$) можна одержати шляхом обробки вищезгаданої Сполуки №1 амідодигідроформною триметилсиліл-діазометану ($TMSCHN_2$) і в змішаному розчиннику, такому як метанол і дихлорметан.

Спосіб одержання 8: Декетоформу (B = водень, наприклад, Сполука №13) можна одержати шляхом обробки триметилового естеру одержаного в Спосіб одержання 7 похідним гідразину, таким як 4-толуолсульфонілгідрозид в розчиннику, такому як метанол, етанол або

бутанол при кімнатній температурі або при нагріванні з одержанням відповідної гідразидної форми, і потім обробити цю гідразидну форму відновлюючим агентом, таким як катехолборан з наступною обробкою основою, такою як гідроксид літію, гідроксид натрію або гідроксид калію в розчиннику, такому як етанол, метанол або вода при кімнатній температурі або при нагріванні.

Спосіб одержання 9: Вищезгадану Сполуку №1 і гідроксиламін або різні O -заміщені гідроксиламіни піддають взаємодії в присутності піридину, триетиламіну або дізопропілетиламіну при кімнатній температурі або при нагріванні одержуючи відповідні форми оксимоного етеру і оксиму ($B = N-OR^6$ і $N-OH$, наприклад, Сполуки № 14 і 15).

Спосіб одержання 10: Галідну форму (B = фтор) можна одержати шляхом обробки вищезгаданої Сполуки №1 діетиламінотрифторидомірки (DAST) в розчиннику, такому як тетрагідрофуран, дихлорметан або хлороформ.

Спосіб одержання 11: Вищезгадану Сполуку №1 і різні аміни піддають відновному амінуванню шляхом обробки відновлюючим агентом, таким як ціаноборгідрид натрію або триацетоксидборгідрид натрію в розчиннику, такому як етанол, метанол або тетрагідрофуран, в нейтральному або слабкокислому середовищі, при кімнатній температурі або при нагріванні одержуючи відповідну аміноформу ($B = -N(R^4)(R^5)$).

Спосіб одержання сполук представленого винаходу

Відсутні будь-які обмеження стосовно штамів мікробів, що можуть бути використані для одержання Сполуки №1, наприклад, за умови, що вони належать до нитковидних грибків, таких як родини *Fusarium* і *Aureobasidium*, і здатні продукувати вищезгадану сполуку, прикладами яких є *Fusarium* sp. штам F1476 (тут далі згадується як "штам F1476") і *Aureobasidium* sp. штам TKR2449 [Міжнародна викладена заявка опублікована під № WO 98/56755].

Штам F1476 характеризується переважним продукуванням вищезгаданої Сполуки №1. Фізіологічні властивості згаданого вище штаму F1476 є наступними: температура росту: 10-30°C, і переважно 20-30°C; pH прийнятна для росту: 3-11, і переважно 5-7.

Штам F1476 також згадується як *Fusarium* sp. F1476, і був депонований під номером FERM BP-8290 у [Міжнародний патентний депозитарій організмів Національного інституту сучасної промислової науки і технології, 4 лютого 2003].

В представленому винаході, на додаток до вищезгаданого штаму F1476, можуть бути використані дикі або штучні мутанти штаму F1476 або інших грибків, що належать до нитковидних грибків, таких як види *Fusarium* або *Aureobasidium*, що мають продукційну здатність, таку ж як і штам F1476.

В представленому винаході, вищезгадану Сполуку №1 можна одержати в культурі шляхом інокулювання штаму F1476 в середовище, що містить джерело поживних речовин необхідних для культивування. Прикладами джерел поживних

речовин є джерело вуглецю, таке як глюкоза, фруктоза, цукроза, крохмаль, декстрин, гліцерин, м'яса, крохмальний сироп, олії і жири і органічні кислоти.

Серед вищезгаданих джерел поживних речовин, прикладами джерел азоту є органічні і неорганічні сполуки азоту, такі як соєве борошно, борошно насіння бавовнику, кукурудзяний екстракт, казеїн, пептони, дріжджовий екстракт, м'ясний екстракт, зародки пшениці, сечовина, амінокислоти і солі амонію.

Серед вищезгаданих джерел поживних речовин, прикладами солей є неорганічні солі, такі як солі натрію, солі калію, солі кальцію, солі магнію і фосфатні солі. Вони можуть бути використані окремо або в придатних комбінаціях.

Вищезгадані джерела поживних речовин можуть бути використані окремо або в придатних комбінаціях.

Якщо необхідно, солі важких металів, такі як солі заліза, солі міді, солі цинку або солі кобальту, вітаміни, такі як біотин і вітамін B1, і органічні і неорганічні речовини, що допомагають росту мікроорганізмів і промотують продукування вищезгаданої Сполуки №1 можуть бути придатними для додавання до вищезгаданого середовища, що містить джерело поживних речовин.

На додаток до вищезгаданих джерел поживних речовин, до середовищ, що містить поживні речовини, можуть бути додані, якщо необхідно, протипінні агенти, поверхнево-активні агенти і т.і., такі як силіконова олія і поліалкіленгіліколевий етер.

Коли культивуємі мікробні штами, що продукують вищезгадану Сполуку №1 у вищезгаданому середовищі, що містить джерела поживних речовин, може бути використаний метод культивування, такий як культивування твердої речовини або культивування рідини типово використовуються, коли продукування біологічно активних речовин за допомогою культивування мікроорганізмів.

Згідно із згаданими вище методами культивування, вищезгадана Сполука №1 акумулюється в культурі. В представленому винаході, Сполука №1, що акумулюється в культурі може бути відокремлена від культури використовуючи відомі методи культивування, з подальшим наступним очищенням, якщо необхідно.

Вищезгадане розділення можна провести шляхом екстрагування цільної культури негідрофільним органічним розчинником, таким як етилацетат, бутилацетат, хлороформ, бутанол або метилізобутиловий кетон. Крім того, Сполуку №1 також можна відокремити шляхом розділення культури на культуральну рідину і міцелій фільтруванням або центрифугуванням, з наступним виділенням Сполуки №1 з культуральної рідини і міцелію, відповідно.

Для того щоб виділити вищезгадану Сполуку №1 з відокремленої культуральної рідини вище, може бути використаний спосіб, в якому культуральну рідину екстрагують негідрофільним органічним розчинником згаданим вище. Крім того,

також може використовуватись спосіб, в якому культуральна рідина контактує з абсорбентом і Сполука №1 присутня в культуральній рідині адсорбується на абсорбенті з наступним використанням як елюенту розчинника.

Прикладами вищезгаданих абсорбентів є активоване вугілля, подрібнена целюлоза і адсорбтивні смоли. Вищезгадані розчинники можуть бути використані окремо або як комбінація двох або декількох типів згідно з типом, властивостями і т.і. абсорбенту. Наприклад, водні розчини водорозчинних органічних розчинників, такі як водний ацетон і водний спирт, можуть бути придатно об'єднані для використання як розчинника.

Також може бути використаний спосіб виділення вищезгаданої Сполуки №1 з відокремленого міцелію, як описано вище, в якому сполуку екстрагують гідрофільним органічним розчинником, таким як ацетон.

В представленому винаході, неочищений екстракт вищезгаданої Сполуки №1, що виділили з культури способом описаним вище, можна використати на стадії, в якій його очищають якщо необхідно.

Вищезгадане очищення можна провести за способами добре відомими середньому спеціалісту в цій галузі використовуючи розділення і очищення ліпофільних біологічно активних речовин, і прикладами таких методів є колонкова хроматографія і високоефективна рідинна хроматографія, використовуючи носії такі як силікагель, активований оксид алюмінію, активоване вугілля або адсорбтивні смоли. У випадку використання колонкової хроматографії як носій використовують силікагель, прикладами розчинників для елюювання є хлороформ, етилацетат, метанол, ацетон і вода. Також можуть бути використані комбінації двох або більше розчинників.

У випадку використання вищезгаданої високоефективної рідинної хроматографії, прикладами носія є силікагель хімічно зв'язаний з октадецильними групами, октильними групами або фенолами і ті, і пористий полістироловий полімерний гель. Прикладами рухомої фази є водні розчини водорозчинних органічних розчинників, таких як водний метанол і водний ацетонітрил.

Вищезгадана Сполука №1 представленою винаходу може бути використана в лікарському засобі або як така або у формі її фармацевтично прийнятної солі. Відсутні особливі обмеження на фармакологічно прийнятну сіль і прикладами є солі мінеральних кислот, таких як хлорводнева кислота, сірчана кислота, азотна кислота, фосфорна кислота і бромводнева кислота, солі органічних кислот, таких як оцтова кислота, винна кислота, молочна кислота, лимонна кислота, фумарова кислота, малеїнова кислота, бурштинова кислота, метансульфонова кислота, етансульфонова кислота, бензолсульфонова кислота, толуолсульфонова кислота, нафталінсульфонова кислота, і камфорсульфонова кислота, і солі лужних металів

або лужноземельних металів, таких як натрій, кальцій і кальцій.

Недивлячись на те, що кількість активного інгредієнту, що міститься у вищезгаданій фармацевтичній композиції, не піддається будь-якому особливому обмеженню і придатна для вибору в широкому інтервалі, вона становить від 0,1 до 99,5ваг.%, і переважно 0,5 -90ваг.%.
 Сполука представленого винаходу може бути сформована використовуючи відомі допоміжні агенти, такі як розчинник, зв'язувальний агент, дезінтегруючий агент, змачувальний агент, коректор, агент, що сприяє розчиненню, суспендувальний агент і агент покриття, який може звичайно використовуватись в технології формування лікарського засобу, згідно з звичайними методами. Коли формується у формі таблеток, а може бути використаний широкий перелік відомих носіїв, прикладами яких є розчинники, такі як лактоза, цукроза, хлорид натрію, глюкоза, сечовина, крохмаль, карбонат кальцію, каолін, кристалічна целюлоза і кремнієва кислота; зв'язувальні агенти, такі як вода, етанол, пропанол, простий сироп, рідка глюкоза, рідкий крохмаль, рідкий желатин, карбоксиметилцелюлоза, шелак, метилцелюлоза, фосфат калію і полівінілпіролідон; дезінтегратори, такі як сухий крохмаль, алгінат натрію, порошкоподібний агар, порошкоподібний ламінаран, гідрокарбонат натрію, карбонат кальцію, поліоксиди сорбітової кислоти, лаурилсульфат натрію, моногліцеридстеарату, крохмаль і лактоза; інгібітори дезінтеграції, такі як цукроза, стеарин, масло какао і глікогеновані олії; промотори абсорбції, такі як четвертинні амонієві солі і лаурилсульфат натрію; агенти, що утримують вологу, такі як гліцерин і крохмаль; абсорбенти, такі як крохмаль, лактоза, каолін, бентоніт і колоїдна кремнієва кислота; і змачувальні агенти, такі як очищений тальк, солі стеаринової кислоти, порошок борної кислоти і поліетиленгліколь.

Однак, таблетки можуть бути у формі таблеток покритих з звичайним покриттям, як необхідно, прикладом яких є таблетки покриті цукром, желатинікапсульовані таблетки, таблетки з кишковим покриттям, таблетки покриті плівкою або таблетки з подвійним покриттям і багатошарові таблетки. Коли формуються у формі пігулок, як носій може бути використаний широкий перелік матеріалів, що є загальновідомими в цій галузі, прикладами яких є розчинники, такі як глюкоза, лактоза, масло какао, отверджена рослинна олія, каолін і тальк; зв'язувальні агенти, такі як порошок арабської камеді, порошок трагаканту, желатин і етанол; і дезінтегратори, такі як ламінарієвий агар. Коли формуються у формі супозиторію, як носій може бути використаний широкий перелік матеріалів, що є загальновідомими в цій галузі, прикладами яких є поліетиленгліколь, масло какао, вищі спирти, естери вищих спиртів, желатин і напісінтетичні гліцериди. У випадку одержання у формі рецептури для ін'єкції, рідину і суспендований агент переважно стерилізують і роблять ізотонічним з кров'ю, і коли формують у формі рідин, емульсій або суспензій, можуть бути

використані всі матеріали, що зазвичай використовуються, як розріджувачі в цій галузі, прикладами яких є вода, етанол, пропіленгліколь, етоксізіостеариловий спирт, поліоксидиостеариловий спирт і естери поліоксидиленсорбіту і жирної кислоти. Крім того, в цьому випадку, в фармацевтичній рецептурі можуть міститись адекватні кількості солі, глюкози або гліцерину для забезпечення ізотонічного розчину, і також можуть бути додані звичайні агенти, що сприяють розчиненню, буфери, анальгетики і т.і.. Крім того, як необхідно, також до складу рецептур можуть входити барвники, консерванти, ароматизатори, смакові агенти, підсолоджувачі і інші фармацевтичні речовини.

Вищезгадана фармацевтична композиція переважно вводиться у одиничній дозованій формі і може бути введена перорально, через тканину (підшкірне введення, внутрішньом'язове введення, внутрішньовенне введення і т.і.), місцево (підшкірно і т.і.) або ректально. Вищезгадана фармацевтична композиція зазвичай вводиться в дозованій формі, що є придатною для цих способів введення.

У випадку введення сполуки представленого винаходу або її фармацевтично прийнятної солі у формі медикаменту, хоча переважно він пристосований беручи до уваги фактори, що залежать від статусу пацієнта, такого як вік і вага тіла, шлях введення, природа і складність захворювання і ті, дозування для дорослої людини, коли використовується як протівірусний лікарський засіб, зазвичай знаходиться в межах від 1 до 2000мг на день, як кількість активного інгредієнту представленого винаходу. Хоча адекватними можуть бути випадки, в яких доза менша ніж згадана вище, і навпаки також можливі випадки, в яких до за вище за вищезгаданий інтервал. Коли вводиться в більших дозах, переважно для введення розділити дозу на ряд введення протягом дня.

Вищезгадане пероральне введення можна здійснити за допомогою твердих, порошкоподібних або рідких дозованих одиниць і можна здійснити у формі порошку, гранул, таблеток, рецептур покритих цукром, капсул, крапель, сублінгвальних рецептур і інших дозованих форм.

Вищезгадане введення через тканину можна здійснити використовуючи рідку одиничну дозовану форму для підшкірного, внутрішньом'язового або внутрішньовенного ін'єктування розчину або суспензії і т.і. Їх одержують шляхом суспендування або розчинення попередньо визначеної кількості сполуки представленого винаходу або її фармацевтично прийнятної солі в нетоксичному рідкому носії сумісного з ціллю ін'єктування, такому як водне або масляне середовище, з наступною стерилізацією вищезгаданої суспензії або розчину.

Вищезгадана місцева введення (підшкірне введення і т.і.) можна здійснити використовуючи форму зовнішньої рецептури, такої як рідина, крем, порошок, паста, гель або мазь. Це можна здійснити шляхом комбінування попередньо визначеної кількості сполуки представленого

винаходу або її фармацевтично прийнятної солі з одним або декількома типами ароматизаторів, барвників, наповнювачів, поверхнево-активних речовин, агентів, що утримують вологу, пом'якшувачами шкіри, желатинізуючими засобами, носіями, консервантами або стабілізаторами і т.і., що придатні для цілей зовнішньої рецептури.

Вищезгадана ректальне введення можна здійснити використовуючи супозиторій і т.і., що містить попередньо визначену кількість сполуки представленого винаходу або її фармацевтично прийнятної солі в низькоплавкій твердій речовині, що складається з, наприклад, вищого естеру, такого як пальмітиновомуристиловий естер, поліетиленгліколь, масло какао або їх суміш.

Вищезгадане введення можна здійснити використовуючи рідку дозовану одиничну форму для підшкірної, внутрішньом'язової або внутрішньовенної ін'єкції розчину або суспензії і т.і. Їх одержують шляхом суспендування або розчинення попередньо визначеної кількості сполуки представленого винаходу або її фармацевтично прийнятної солі в нетоксичному рідкому носії сумісного з ціллю ін'єктування, такому як водне або масляне середовище, з наступною стерилізацією вищезгаданої суспензії або розчину.

Приклади

Хоча далі приводиться детальний опис представленого винаходу за допомогою прикладів, представлений винахід не обмежується цими прикладами.

Приклад 1

Штам F1476, що використовується в представленому винаході, є нитевидним грибом, що був виділений шляхом промивання і фільтрування 29 лютого 2000 з опалого листа зібраного на південному схилі Камакураяма в Камакура, Японія 24 січня 2000.

Особливості культивування

Ріст на агарі декстрази картоплі (ДАК) є повільним, організми збільшились в діаметрі на 12мм після 10 днів опромінення ближнім ультрафіолетовим світлом при 25°C, швидкість росту становить 1,5-1,6мм на день, організми формують густу міцелярну флору, поверхні є хвиляподібними і рельєфними, вологі конідіоспори в основному збираються у центрі, рельєфно флокульовані агрегати гіфа іноді утворюються на периферії, колір є світло-оранжевим (абрикосовий, світло-оранжевий, від світло-абрикосового до абрикосового, Мунселл 5YR7/6 до 7/10, Метуен 6A6 до 6B8), і колір зворотного боку змінюється від світло-оранжевого до оранжевого (світло-оранжевий, яскраво-червонувато-оранжевий, тигрово-ліловий, Мунселл 5-10YR7/10, Метуен 6B8 до 8A6).

Швидкість росту є несуттєво меншою в темноті, будучи 0,9-1,1мм на день, колір є світлішим і бежевим (блідо-бежевий, колір слоновової кістки, Мунселл 10YR9/2, Метуен 4A3), і колір зворотного боку є світло-червонувато-жовтим (світло-червонувато-жовтий, неаполітанський жовтий). Однак, колір гіфи є іноді темнішим, в інтервалі від кольору охри до

сірувато-коричневого (золотий, золотисто-охровий, світло-сірувато-коричневий, блондин, Мунселл 10YR5/4-8, Метуен 5E5-8). В цьому випадку, колір зворотного боку є темно-жовтувато-коричневим (каштановий, темно-жовтувато-коричневий, жжена умбра, Мунселл 10YR3/6).

Ріст на агарі мальтозного екстракту (МА) є повільним, організми збільшуються в діаметрі до 11мм після 11 днів опромінення ближнім ультрафіолетовим світлом, швидкість росту 1,0мм/день, формується густа міцеляльна флора, поверхня є рельєфною і проявляється вовноподібна або войлокоподібна текстура, колір є світло-оранжевим (світло-оранжевий, світло-абрикосовий, Мунселл 5YR8/6, Метуен 6A6), і колір зворотного боку є яскраво-оранжевим (яскраво-оранжевий, оранжева настурція, Мунселл 5YR7/12, Метуен 6A7). Колір тускніє в темноті.

Ріст на агарі вівсяного екстракту (ВА) є швидким, організми збільшуються в діаметрі до 21мм після 10 днів опромінення ближнім ультрафіолетовим світлом, швидкість росту 3,7мм на день, організми є плоскими і велика кількість конідіоспорних баз густо концентрується в центрі утворюючи гранули. Колір є світло-жовтувато-оранжевим (світло-жовтувато-оранжевий, блідо-жовтий, Мунселл 5YR7/8, Метуен 6B6), і колір зворотного боку є таким самим. Колір тускніє в темноті.

Ріст на агарі синтетичних поживних речовин (SNA) є повільним, організми збільшуються в діаметрі до 13мм після 7 днів опромінення ближнім ультрафіолетовим світлом, швидкість росту 1,6мм на день, організми утворюють плоскі тонкі колонії, що мають войлоко або вовноподібну структуру, вологі конідіоспорні бази нерегулярно присутні в центрі, колір бежевий (блідо-бежевий, слонова-кістка, Мунселл 10YR9/2, Метуен 4A3), і колір зворотного боку є таким самим. Подібний ріст спостерігається і в темноті.

Ріст на середовищі Міура (LCA) є швидким, організми збільшуються в діаметрі до 25мм після 10 днів опромінення ближнім ультрафіолетовим світлом, швидкість росту 3,4мм на день, організми утворюють плоскі тонкі колонії, що мають гранулярну або вовноподібну текстуру, вологі конідіоспорні бази нерегулярно присутні в центрі, колір бежевий (блідо-бежевий, слонова-кістка, Мунселл 10YR9/2, Метуен 4A3), і колір зворотного боку є таким самим. Подібний ріст спостерігається і в темноті.

Температура росту знаходиться в інтервалі від 10 до 30°C і оптимальна температура для росту від 20 до 30°C.

pH росту знаходиться в інтервалі від 3 до 11, і оптимальний pH становить 5-7.

Морфологічні властивості

На SNA, стебла конідіоспор ростуть вертикально з переносимого повітрям міцелію, вони є розгалуженими і фіаліди вертикально безпосередньо на відгалуженнях або стеблах конідіоспор, що призводить до утворення комплексу структур конідіоспор. Фіаліди іноді ростуть незалежно на переносимих повітрях гіфах. Структура конідіоспор формується з гіф, що лежать на поверхні агару, і деякі з них не

піднімаються в повітря. Стебла конідіоспор мають довжину від 10 до 30мкм. Фіаліди є циліндричними і зазвичай мають випуклу структуру на їх кінці, розмір цієї структури становить від 4,0 до 20,0×2,5 до 3,0мкм. Фіалоконідіоспори утворюються агрегованими, що злипаються з в'язкою рідиною на кінцях фіалід, вони зазвичай мають місяцеподібну форму, і мають добре визначені подоцти в основі. Апікальні клітини є довгими і вузькими або іноді мають закруглений кінець. Вони зазвичай є закругленими і іноді мають еліптичну форму або циліндричну форму, 1-3(4) семикутник, і розміри 6,8-30,0×1,9-4,9мкм, Д/Ш 3,7-8,1 (середня: 19,3×3,8мкм), Д/Ш 5,2). Хламідоспори не спостерігались.

Ідентифікація

Комплекс, кластероподібної конідіоспорної структури утворювався з світлозабарвленої гіфа іноді утворюючи конідіоспорні бази, і конідіоспори мають фіалотип, що росте ендогенно з кінців циліндричних фіалід, є світло-забарвленими і складаються з 2-5 клітин, що мають характеристичну форму або місяцеподібну форму. На основі вищезгаданих морфологічних характеристик, цей штам F1476 віднесли до родини *Fusarium*, недосконалі грибки. Тому, ці грибки ідентифікували як *Fusarium* sp. штам F1476.

Приклад 2

Одну петлю мікроорганізмів одержаної з пристосованої культури штаму F1476 інокулювали в 25 500мл колб Ерленмейєра з перегородками, що містить 100мл рідкого середовища (2% глюкози, 1,5% гліцерину, 1% картопляного крохмалю, 0,25% поліпептону, 0,35% дріжджового екстракту, 0,5% карбонату кальцію, 0,3% хлориду натрію, 0,005% гептагідрату сульфату цинку, 0,0005% гептагідрату сульфату міді, 0,0005% тетрагідрату сульфату марганцю і 1% висушеної сої), після чого культивували при збівтуванні при 25°C протягом 3 днів (швидкість збівтування: 220об/хв) одержуючи інокульовану затравку культури. 16мл цієї інокульованої затравки культури інокулювали в 125 500мл колб Ерленмейєра з перегородками, що містять тверде середовище (40г пресованого ячменю, 24мл розчину SF1 (0,1% дріжджового екстракту, 0,05% тартрату натрію, 0,05% дигідрофосфату калію)), після чого стаціонарно культивували при 25°C протягом 11 днів. Потім додавали 12,5л н-бутанолу до культури культивованої за цих умов і залишали стояти протягом ночі і потім фільтрували одержуючи н-бутанольний екстракт. Після концентрації екстракту одержаного таким чином, його суспендували в 1л воді і після доведення рН до 2 хлорводневою кислотою, його екстрагували 1,1л етилацетату. Водний шар знову екстрагували 1,1л етилацетату і об'єднували з першим екстрактом. Потім до цього етил ацетатного екстракту (2,2л) додавали 0,9л води і потім розділяли після доведення рН до 10 використовуючи водний розчин гідроксид натрію. Знову додавали 1л етилацетату до одержаного водного шару і потім екстрагували після доведення рН до 3 хлорводневою кислотою. Одержаний водний шар знову екстрагували 1л

етилацетатом. Етилацетатний екстракт (2л) одержаний таким чином потім сушили над сульфатом натрію після чого концентрували і сушили одержуючи 567мг неочищеного екстракту. Його потім розчиняли в метанолі і повторно піддавали препаративній високоефективній рідинній хроматографії за Умов 1 приведених нижче одержуючи фракцію що містить Сполуку 1 (Фракція 1), фракцію, що містить Сполуки 2 і 3 (Фракція 2) і фракцію, що містить Сполуки 4, 5 і 6 (Фракція 3). Фракцію 1 концентрували при пониженому тиску одержуючи 380мг Сполуки 1 у формі білого порошку.

Умови 1 високоефективної рідинної хроматографії

Прилад: CAPP-D, MCPD-3600 System (Tosoh)

Колонка: CAPCELL PAK C18 (UG 80, 20мм×250мм) (Shiseido)

Рухома фаза: Елюювали градієнтом розчинників використовуючи воду, що містить 0,01% трифтороцтової кислоти і ацетонітрил, що містить 0,01% трифтороцтової кислоти (15% ацетонітрилу до 98% ацетонітрилу, постадійно)

Фізико-хімічні властивості Сполуки 1

Молекулярна вага: 659

БША-МС (позитивний метод, матрикс m-NBA) 660 (M+H⁺)

БША-МС (негативний метод, матрикс m-NBA) 658 (M-H⁻)

¹H-ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ 0,89 (3H, т, J=7Гц), 1,20-1,40 (14H, м), 1,53 (4H, м), 1,73 (3H, с), 1,77 (3H, с), 1,96 (2H, м), 2,42 (4H, м), 2,57 (1H, д, J=16,5Гц), 2,89 (1H, д, J=16,5Гц), 2,91 (1H, дд, J=14, 9Гц), 3,15 (1H, дд, J=14, 4,5Гц), 3,20 (1H, д, J=8Гц), 4,47 (2H, д, J=6Гц), 4,63 (1H, дд, J=9, 4,5Гц), 5,43 (1H, м), 5,52 (2H, м), 6,78 (2H, J=9Гц), 7,10 (2H, J=9Гц)

Приклад 3

Одну з фракцій одержаних в Прикладі 2 (Фракція 2, 345мг) піддавали препаративній високоефективній рідинній хроматографії за Умов 2 приведених нижче для відокремлення фракції, що містить Сполуку 2 (Фракція 2-1, 41,4мг) і фракції, що містить Сполуку 3 (Фракція 2-2, 4,9мг). Фракцію 2-1 піддавали препаративній високоефективній рідинній хроматографії за Умов 3, показані нижче, з одержанням фракції, що містить Сполуку 2. Одержану фракцію концентрували при пониженому тиску одержуючи 29,5мг Сполуки 2 у формі білого порошку. Аналогічно, Фракцію 2-2 піддавали препаративній високоефективній рідинній хроматографії за Умов 4 з одержанням 3мг Сполуки 3 у формі білого порошку.

Умови 2 високоефективної рідинної хроматографії

Прилад: CAPP-D, MCPD-3600 System (Tosoh)

Колонка: CAPCELL PAR C18 (UG 80, 20мм×250мм) (Shiseido)

Рухома фаза: Елюювали градієнтом розчинників використовуючи воду, що містить 0,01% трифтороцтової кислоти і ацетонітрил, що містить 0,01% трифтороцтової кислоти (65% ацетонітрилу до 98% ацетонітрилу, постадійно)

Умови 3 високоефективної рідинної хроматографії

Прилад: CСРР-D, MCPD-3600 System (Tosoh)
Колонка: CAPCELL PAK Speriorex ODS (20мм×250мм) (Shiseido)

Рухома фаза: Елюювали градієнтом розчинників використовуючи воду, що містить 0,01% трифтороцтової кислоти і ацетонітрил, що містить 0,01% трифтороцтової кислоти (65% ацетонітрилу до 98% ацетонітрилу, постадійно)

Умови 4 вискоєфективної рідинної хроматографії

Прилад: CСРР-D, MCPD-3600 System (Tosoh)
Колонка: CAPCELL PAK C8 (SG 120, 20мм×250мм) (Shiseido)

Рухома фаза: Елюювали градієнтом розчинників використовуючи воду, що містить 0,01% трифтороцтової кислоти і ацетонітрил, що містить 0,01% трифтороцтової кислоти (65% ацетонітрилу до 98% ацетонітрилу, постадійно)

Фізико-хімічні властивості Сполуки 2

Молекулярна вага: 673

ЕСІ (РХ/МС позитивний метод) 674 (M+H⁺)

¹H-ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ 0,89 (3H, т, J=7Гц), 1,20-1,40 (14H, м), 1,53 (4H, м), 1,73 (3H, с), 1,77 (3H, с), 1,96 (2H, м), 2,42 (4H, м), 2,59 (1H, д, J=16,5Гц), 2,89 (1H, д, J=16,5Гц), 2,91 (1H, дд, J=14, 9Гц), 3,15 (1H, дд, J=14, 4,5Гц), 3,20 (1H, д, J=8Гц), 3,63 (3H, с), 4,47 (2H, д, J=6Гц), 4,63 (1H, дд, J=9, 4,5Гц), 5,43 (1H, м), 5,54 (2H, м), 6,78 (2H, д, J=9Гц), 7,10 (2H, д, J=9Гц)

Фізико-хімічні властивості Сполуки 3

Молекулярна вага: 687

ЕСІ (РХ/МС позитивний метод) 688 (M+H⁺)

¹H-ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ 0,89 (3H, т, J=7Гц), 1,20-1,40 (14H, м), 1,53 (4H, м), 1,73 (3H, с), 1,77 (3H, с), 1,96 (2H, м), 2,42 (4H, м), 2,56 (1H, д, J=16,5Гц), 2,89 (1H, д, J=16,5Гц), 2,91 (1H, дд, J=14Гц, 9Гц), 3,11 (1H, дд, J=14, 4,5Гц), 3,20 (1H, д, J=8Гц), 3,63 (3H, с), 3,71 (3H, с), 4,47 (2H, д, J=6Гц), 4,64 (1H, дд, J=9, 4,5Гц), 5,43 (1H, м), 5,54 (2H, м), 6,79 (2H, д, J=9Гц), 7,08 (2H, д, J=9Гц)

Приклад 4

Одну з фракцій одержаних в Прикладі 2 (Фракція 3, 453мг) піддавали препаративній вискоєфективній рідинній хроматографії за вищезгаданих Умов 2 для відокремлення фракції, що містить Сполуку 4 (Фракція 3-1), фракції, що містить Сполуку 5 (Фракція 3-2, 16,4мг) і фракції, що містить Сполуку 6 (Фракція 3-3, 26,5мг). Фракцію 3-1 концентрували при пониженому тиску одержуючи 2мг Сполуки 4 у формі білого порошку. Фракцію 3-2 піддавали препаративній вискоєфективній рідинній хроматографії за Умов 5, показані нижче, одержуючи фракцію, що містить Сполуку 5. Одержану фракцію концентрували при пониженому тиску виділяючи 4мг Сполуки 5 у формі білого порошку. Аналогічно, Фракцію 3-3 піддавали препаративній вискоєфективній рідинній хроматографії за Умов 5 одержуючи 6мг Сполуки 6 у формі білого порошку.

Умови 5 вискоєфективної рідинної хроматографії

Прилад: CСРР-D, MCPD-3600 System (Tosoh)
Колонка: CAPCELL PAK CIS (UG 80, 20мм×250мм) (Shiseido)

Рухома фаза: Елюювали градієнтом розчинників використовуючи воду, що містить 0,01% трифтороцтової кислоти і ацетонітрил, що містить 0,01% трифтороцтової кислоти (50% ацетонітрилу до 98% ацетонітрилу, постадійно)

Фізико-хімічні властивості Сполуки 4

Молекулярна вага: 607

ЕСІ (РХ/МС позитивний метод) 608 (M+H⁺)

¹H-ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ 0,89 (3H, т, J=7Гц), 1,20-1,40 (14H, м), 1,58 (4H, м), 2,00 (2H, м), 2,52 (2H, м), 2,56 (1H, д, J=16Гц), 2,88 (1H, дд, J=14, 8Гц), 2,90 (1H, д, J=16Гц), 3,10 (1H, дд, J=14, 4Гц), 3,20 (1H, д, J=8Гц), 4,05 (1H, дд, J=8, 4,5Гц) 4,60 (1H, дд, J=8,4,5Гц), 5,53 (2H, м), 6,67 (2H, д, J=8Гц), 7,02 (2H, д, J=8Гц)

Фізико-хімічні властивості Сполуки 5

Молекулярна вага: 614

ЕСІ (РХ/МС позитивний метод) 615 (M+H⁺)

¹H-ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ 0,89 (3H, т, J=7Гц), 1,20-1,40 (14H, м), 1,53 (4H, м), 1,93 (2H, м), 2,27 (4H, м), 2,58 (1H, д, J=16Гц), 2,86 (1H, д, J=16Гц), 3,22 (2H, м), 3,65 (1H, д, J=9Гц), 4,73 (1H, дд, J=8, 5Гц), 5,50 (2H, м), 6,96 (1H, т, J=7Гц), 7,06 (1H, т, J=7Гц), 7,10 (1H, с), 7,29 (1H, д, J=7Гц) 7,55 (1H, д, J=7Гц)

Фізико-хімічні властивості Сполуки 6

Молекулярна вага: 675

ЕСІ (РХ/МС позитивний метод) 676 (M+H⁺)

¹H-ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ 0,89 (3H, т, J=7Гц), 1,20-1,40 (14H, м), 1,53 (4H, м), 1,72 (3H, с), 1,77 (3H, с), 1,92 (2H, м), 2,42 (2H, м), 2,57 (1H, д, J=16Гц), 2,89 (1H, д, J=16Гц), 2,91 (1H, дд, J=14, 9Гц), 3,15 (1H, дд, J=14, 4,5Гц), 3,20 (1H, д, J=7Гц), 4,05 (1H, дд, J=8, 4Гц), 4,47 (2H, д, J=6Гц), 4,62 (1H, дд, J=9, 4,5Гц), 5,43 (1H, м), 5,52 (2H, м), 6,78 (2H, д, J=9Гц), 7,10 (2H, д, J=9Гц)

Приклад 5

Синтез Сполуки 7

10% Pd-C (1мг) додавали до розчину метанолу (2мл) Сполуки 1 (5мг, 0,0075ммоль) і перемішували при кімнатній температурі протягом 24 годин в атмосфері водню. Паладієвий каталізатор потім відфільтровували після чого концентрували фільтрат при пониженому тиску. Одержаний залишок очищали за допомогою препаративної рідинної хроматографії за умов приведених нижче одержуючи Сполуку 7 (1,7мг, 34%) у формі безбарвної маслоподібної речовини.

Умови вискоєфективної рідинної хроматографії

Прилад: CСРР-D, MCPD-3600 System (Tosoh)
Колонка: CAPCELL PAK C18 (UG, 4,6мм×150мм) (Shiseido)

Рухома фаза: Елюювали градієнтом розчинників використовуючи воду, що містить 0,005% трифтороцтової кислоти і ацетонітрил, що містить 0,005% трифтороцтової кислоти (65% ацетонітрилу до 98% ацетонітрилу, постадійно)

Фізико-хімічні властивості Сполуки 7

Молекулярна вага: 661

ЕСІ (РХ/МС позитивний метод) 662 (M+H⁺) *

¹H-ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ: 0,89 (3H, т, J=7Гц), 0,96 (6H, д, J=6,5Гц), 1,20-1,35 (14H, м), 1,46-1,58 (4H, м), 1,64 (2H, к,

J=6,5Гц), 1,83 (1Н, квінтет, J=6,5Гц), 1,93-2,01 (2Н, м), 2,43 (4Н, т, J=7,5Гц), 2,58 (1Н, д, J=16Гц), 2,89 (1Н, д, J=16Гц), 2,91 (1Н, дд, J=14, 9Гц), 3,16 (1Н, дд, J=14, 5Гц), 3,19. (1Н, д, J=8,5Гц), 3,95 (2Н, т, J=6,5Гц), 4,64 (1Н, дд, J=9, 5Гц), 5,50-5,56 (2Н, м), 6,79 (2Н, д, J=8,5Гц), 7,11 (2Н, д, J=8,5Гц)

Приклад 6

Синтез Сполуки 8

Боргидрид натрію (13мг, 0,33ммоль) додавали до метанольного розчину (1,5мл) Сполуки 1 (22мг, 0,033ммоль) і перемішували при кімнатній температурі протягом 4 годин. Реакційний розчин потім нейтралізували 1N водною хлорводневою кислотою і розчинник відганяли при пониженому тиску. До одержаного залишку додавали дихлорметан (10мл) і нерозчинну речовину відфільтровували. Фільтрат потім піддавали обробці Mega Bond Elute Diol (500мг, Varian) одержуючи Сполуку 8 (11мг, 51%) у формі білого порошку при елююванні дихлорметан/метанол (30:1).

Фізико-хімічні властивості Сполуки 8

Молекулярна вага: 661

ESI (PX/МС позитивний метод) 662 (M+H⁺)

¹H-ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ: 0,90 (3Н, т, J=7Гц), 1,20-1,48 (22Н, м), 1,73 (3Н, с), 1,77 (3Н, с), 1,93-2,04 (2Н, м), 2,58 (1Н, д, J=16Гц), 2,89 (1Н, д, J=16Гц), 2,91 (1Н, дд, J=14, 9Гц), 3,16 (1Н, дд, J=14, 4,5Гц), 3,20 (1Н, д, J=8Гц), 3,44-3,53 (1Н, м), 4,48 (2Н, д, J=6,5Гц), 4,64 (1Н, дд, J=9, 4,5Гц), 5,41-5,47 (1Н, м), 5,51-5,56 (2Н, м), 6,79 (2Н, д, J=8,5Гц), 7,11 (2Н, д, J=8,5Гц)

Приклад 7

Синтез Сполуки 9

Сполуку 1 (30мг, 0,045ммоль) додавали до розчину 1,4-діоксану (1мл) і 6N водної хлорводневої кислоти (0,5мл) і потім перемішували при 50°C протягом 5 хвилин і потім перемішували при кімнатній температурі протягом 4 годин. Потім до реакційного розчину додавали воду (15мл) і екстрагували етилацетатом (15мл). Після промивання насиченим водним розчином NaCl (15мл), органічний шар дегідрували і сушили над безводним сульфатом натрію. Розчинник потім відганяли при пониженому тиску одержуючи Сполуку 9 (24мг, 91%) у формі білого порошку.

Фізико-хімічні властивості Сполуки 9

Молекулярна вага: 591

ESI (PX/МС позитивний метод) 592 (M+H⁺)

¹H-ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ: 0,90 (3Н, т, J=7Гц), 1,20-1,40 (14Н, м), 1,46-1,59 (4Н, м), 1,93-2,03 (2Н, м), 2,43 (4Н, т, J=7Гц), 2,62 (1Н, д, J=16Гц), 2,89 (1Н, дд, J=14, 9Гц), 2,91 (1Н, д, J=16Гц), 3,11 (1Н, дд, J=14, 5Гц), 3,21 (1Н, д, J=8Гц), 4,61 (1Н, дд, J=9, 5Гц), 5,46-5,57 (2Н, м), 6,67 (2Н, д, J=8,5Гц), 7,02 (2Н, д, J=8,5Гц)

Приклад 8

Синтез Сполуки 10

10% Pd-C (3мг) додавали до метанольного розчину (1мл) Сполуки 9 (12мг, 0,020ммоль) і перемішували при кімнатній температурі протягом 3 годин в атмосфері водню. Паладієвий каталізатор відфільтровували і фільтрат концентрували при пониженому тиску. Залишок

потім очищали за допомогою розгортаючої тонкошарової хроматографії (DIOL F254s, Merck, розчинник розгортання: дихлорметан/метанол (10:1), значення R_f: 0,4) одержуючи Сполуку 10 (3мг, 25%) у формі білого порошку.

Фізико-хімічні властивості Сполуки 10

Молекулярна вага: 593

ESI (PX/МС позитивний метод) 594 (M+H⁺)

¹H-ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ: 0,90 (3Н, т, J=7Гц), 1,03-1,40 (20Н, м), 1,45-1,60 (4Н, м), 2,40-2,47 (4Н, м), 2,54-2,64 (1Н, м), 2,65 (1Н, д, J=17Гц), 2,75-2,88 (2Н, м), 3,20 (1Н, дд, J=14,5, 4,5Гц), 4,65 (1Н, дд, J=10, 4,5Гц), 6,69 (2Н, д, J=8,5Гц), 7,08 (2Н, д, J=8,5Гц)

Приклад 9

Синтез Сполуки 11

Хлорид амонію (7,3мг, 0,136ммоль), водорозчинний гідрохлорид карбодіміду (WSC HCl, 28мг, 0,145ммоль), 1-гідроксибензотриазол (HOBt, 22мг, 0,145ммоль) і N,N-діізопропілетиламін (DIPEA, 174мкл, 0,145ммоль) до ДМФА розчину (1мл) Сполуки 1 (20мг, 0,030мм) і перемішували при кімнатній температурі протягом 17 годин. Після відгонки розчинника при пониженому тиску, залишок розчиняли в етилацетаті (20мл) і потім промивали насиченим водним хлоридом амонію (20мл) і насиченим водним розчином NaCl (20мл). Після дегідратації і висушування органічного шару над безводним сульфатом натрію, розчинник відганяли при пониженому тиску. Одержаний залишок очищали за допомогою препаративної високоефективної рідинної хроматографії за умов приведених нижче одержуючи Сполуку 11 (4,4мг, 22%) у формі білого порошку.

Умови високоефективної рідинної хроматографії

Прилад: CCPS, MCPD-3600 System (Tosoh)

Колонка: CAPCELL PAK C18 (UG, 4,6мм×150мм) (Shiseido)

Рухома фаза: Елюювали градієнтом розчинників використовуючи воду, що містить 0,005% трифтороцтової кислоти і ацетонітрил, що містить 0,005% трифтороцтової кислоти (65% ацетонітрилу до 98% ацетонітрилу, постадійно)

Фізико-хімічні властивості Сполуки 11

Молекулярна вага: 656

ESI (PX/МС позитивний метод) 657 (M+H⁺)

¹H-ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ: 0,90 (3Н, т, J=7Гц), 1,19-1,39 (14Н, м), 1,46-1,59 (4Н, м), 1,73 (3Н, с), 1,77 (3Н, с), 1,88-1,98 (2Н, м), 2,28 (1Н, д, J=15Гц), 2,43 (4Н, т, J=7,5Гц), 2,74 (1Н, д, J=15Гц), 2,79 (1Н, дд, J=14, 10Гц), 3,15 (1Н, дд, J=14, 4,5Гц), 3,18 (1Н, д, J=8Гц), 4,47 (2Н, д, J=6,5Гц), 4,59 (1Н, дд, J=10, 4,5Гц), 5,39-5,49 (3Н, м), 6,79 (2Н, д, J=8,5Гц), 7,13 (2Н, д, J=8,5Гц)

Приклад 10

Синтез Сполуки 12

10% Pd-C (10мг) додавали до метанольного розчину (10мл) Сполуки 1 (80мг, 0,12ммоль) і перемішували при кімнатній температурі протягом 20 годин в атмосфері водню. Паладієвий каталізатор відфільтровували використовуючи Целіт і фільтрат концентрували при пониженому тиску. Залишок потім очищали за допомогою

розгортаючої тонкошарової хроматографії (DIOL F254s, Merck, розчинник розгортання: дихлорметан/метанол (10:1), значення Rf: 0,8) одержуючи Сполуку 12 (41мг, 51%) у формі білого порошку.

Фізико-хімічні властивості Сполуки 12

Молекулярна вага: 663

ЕСІ (РХ/МС позитивний метод) 664 (M+H⁺)

¹H-ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ: 0,90 (3H, т, J=7Гц), 0,96 (6H, д, J=6,5Гц), 1,07-1,35 (20H, м), 1,46-1,56 (4H, м), 1,64 (2H, к, J=6,5Гц), 1,81 (1H, секстет, J=6,5Гц), 2,43 (4H, т, J=7,5Гц), 2,50-2,58 (1H, м), 2,61 (1H, д, J=16,5Гц), 2,84 (1H, дд, J=14,5, 10,5Гц), 2,92 (1H, д, J=16,5Гц), 3,22 (1H, дд, J=14,5, 4Гц), 3,95 (2H, т, J=6,5Гц), 4,71 (1H, дд, J=10,5, 4Гц), 6,81 (2H, д, J=8,5Гц), 7,16 (2H, д, J=8,5Гц)

Приклад 11

Синтез Сполуки 13

а) Синтез триметилестерного похідного Сполуки 1

10об/об% гексановий розчин (4,3мл) триметилсилілдіазометану додавали до розчину метанолу (15мл) і дихлорметану (15мл) Сполуки 1 (260мг, 0,39ммоль) і перемішували при кімнатній температурі протягом 3 годин. Реакційну суміш потім концентрували при пониженому тиску і одержаний залишок очищали використовуючи Mega Bond Elute Silica Gel (2г, Varian). Триметилестерну форму Сполуки 1 (230мг, 83%) одержували у формі білого порошку використовуючи як елюент гексан/етилацетат (1:1).

Фізико-хімічні властивості триметил естерної форми Сполуки 1

Молекулярна вага: 701

БША-МС (позитивний метод, матрикс m-NBA) 702 (M+H⁺)

¹H-ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ: 0,89 (3H, т, J=7Гц), 1,20-1,37 (14H, м), 1,46-1,59 (4H, м), 1,73 (3H, с), 1,77 (3H, с), 1,93-2,03 (2H, м), 2,43 (4H, т, J=7,5Гц), 2,60 (1H, д, J=16Гц), 2,89 (1H, дд, J=14, 9Гц), 2,93 (1H, д, J=16Гц), 3,11 (1H, дд, J=14, 5Гц), 3,19 (1H, д, J=8,5Гц), 3,63 (3H, с), 3,71 (3H, с), 3,72 (3H, с), 4,48 (2H, д, J=6,5Гц), 4,63 (1H, дд, J=9, 5Гц), 5,40-5,58 (3H, м), 6,79 (2H, д, J=8,5Гц), 7,07 (2H, д, J=8,5Гц)

б) Синтез гідрозидного похідного

4-Толуолсульфонілгідрозид (6,7мг, 0,036ммоль) додавали до метанольного розчину (2мл) вищезгаданої триметилестерної форми Сполуки 1 (21мг, 0,030ммоль) і потім кип'ятили протягом 1,5 годин. Розчинник відганяли при пониженому тиску, і одержаний залишок сушили при пониженому тиску протягом 24 годин. Залишок потім розчиняли в безводному хлороформі (2мл) і потім при 0°C додавали 1М тетрагідрофурановий розчин катехолборану (75мкл, 0,075ммоль) і перемішували при цій температурі протягом 3 годин. До реакційної суміші додавали метанол (20мкл) і перемішували при кімнатній температурі протягом 10 хвилин. Крім того, додавали ацетат натрію (8мг, 0,060ммоль) і диметилсульфоксид (32мкл) і кип'ятили протягом 1 години. Потім до реакційної суміші додавали воду (20мл) і потім двічі екстаргували етилацетатом (20мл). Органічні

шари об'єднували, промивали насичений водним розчином NaCl (20мл) і потім дегідратували і сушили над безводним сульфатом натрію після чого відганяли розчинник при пониженому тиску. Залишок потім очищали за допомогою розгортаючої тонкошарової хроматографії (Silica Gel F254, Merck, розчинник розгортання: гексан/етилацетат (3:1), Значення Rf: 0,3) одержуючи гідрозидну форму (11мг, 54%) у формі білого порошку.

Фізико-хімічні властивості Гідрозидного похідного

Молекулярна вага: 687

БША-МС (позитивний метод, матрикс m-NBA) 688 (M+H⁺)

¹H-ЯМР (в дейтерохлороформі) значення хімічного зсуву δ: 0,88 (3H, т, J=6,5Гц), 1,15-1,37 (24H, м), 1,74 (3H, с), 1,80 (3H, с), 1,94-2,04 (2H, м), 2,62 (1H, д, J=16Гц), 2,87 (1H, д, J=16Гц), 3,00 (1H, дд, J=14, 7Гц), 3,10 (1H, дд, J=14, 5,5Гц), 3,16 (1H, д, J=9Гц), 3,67 (3H, с), 3,72 (3H, с), 3,76 (3H, с), 4,47 (2H, д, J=7Гц), 4,76-4,83 (1H, м), 5,41-5,69 (3H, м), 6,76 (1H, д, J=8Гц), 6,80 (2H, д, J=9Гц), 7,03 (2H, д, J=9Гц)

в) Синтез Сполуки 13

1М водний розчин гідроксиду літію (0,15мл, 0,15ммоль) додавали до етанольного розчину (1мл) вищезгаданої гідрозидної форми (10мг, 0,015ммоль) і перемішували при кімнатній температурі протягом 16 годин. Реакційну суміш потім нейтралізували 1N водним розчином хлорводневої кислоти і розчинник концентрували при пониженому тиску. Залишок потім очищали за допомогою розгортаючої тонкошарової хроматографії (DIOL F254s, Merck, розчинник розгортання: дихлорметан/метанол (10:1), Значення Rf: 0,5) одержуючи Сполуку 13 (3мг, 35%) у формі білого порошку. Слід відзначити, що Сполуку 13 в цьому прикладі одержували у формі сполуки, в якій конфігурація тирозинової частини є рацемічною.

Фізико-хімічні властивості Сполуки 13

Молекулярна вага: 645

ЕСІ (РХ/МС позитивний метод) 646 (M+H⁺)

¹H-ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ: 0,90 (3H, т, J=7Гц), 1,18-1,44 (24H, м), 1,73 (3H, с), 1,77 (3H, с), 1,90-2,04 (2H, м), 2,57-2,68 (1H, м), 2,86-3,22 (4H, м), 4,47 (2H, д, J=6,5Гц), 4,56-4,67 (1H, м), 5,39-5,65 (3H, м), 6,78-6,84 (2H, м), 7,09-7,16 (2H, м)

Приклад 12

Синтез Сполуки 14

Сполуку 1 (10мг, 0,015ммоль) і дигідрохлорид О-(2-аміноетил)гідроксиламіну (4,5мг, 0,030ммоль) розчиняли в піридині (0,2мл) і перемішували при кімнатній температурі протягом 16 годин. Після відгонки розчинника при пониженому тиску, залишок очищали за допомогою розгортаючої тонкошарової хроматографії (DIOL F254s, Merck, розчинник розгортання: дихлорметан/метанол (5:1), Значення Rf: 0,5) одержуючи Сполуку 14 (Ro 4575919) (7,7мг, 71%) у формі безбарвної маслоподібної речовини.

Фізико-хімічні властивості Сполуки 14

Молекулярна вага: 717

ЕСІ (РХ/МС позитивний метод) 718 (M+H⁺)

¹H-ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ : 0,90 (3H, т, J=7Гц), 1,21-1,40 (14H, м), 1,42-1,56 (4H, м), 1,74 (3H, с), 1,78 (3H, с), 1,88-2,04 (2H, м), 2,18 (2H, т, J=7,5Гц), 2,30-2,37 (2H, м), 2,63 (1H, д, J=15Гц), 2,84-2,97 (2H, м), 3,12-3,25 (4H, м), 4,18 (2H, т, J=5Гц), 4,48 (2H, д, J=6,5Гц), 4,63 (1H, дд, J=9, 4Гц), 5,40-5,62 (3H, м), 6,80 (2H, д, J=8,5Гц), 7,11 (2H, д, J=8,5Гц)

Приклад 13

Синтез Сполуки 15

Сполуку 1 (10мг, 0,015ммоль) і гідроклорид О-метилгідроксиламіну (2,5мг, 0,030ммоль) розчиняли в піридині (0,2мл) і перемішували при кімнатній температурі протягом 15 годин. Після відгонки розчинника при пониженому тиску, залишок очищали використовуючи Mega Bond Bute Diol (500мг, Varian). Сполуку 15 (9,6мг, 92%) одержували у формі у формі безбарвної маслоподібної речовини використовуючи як елюент диіхлорметан/метанол (25:1).

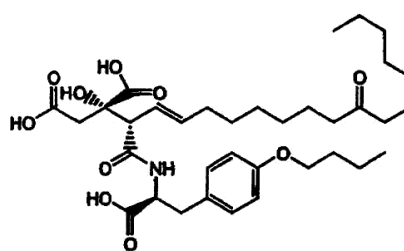
Фізико-хімічні властивості Сполуки 15

Молекулярна вага: 688

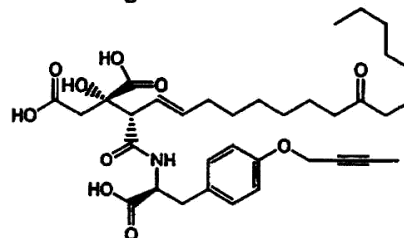
ESI (PX/МС позитивний метод) 689 (M+H⁺)

¹H-ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ : 0,90 (3H, т, J=7Гц), 1,20-1,36 (14H, м), 1,40-1,50 (4H, м), 1,74 (3H, с), 1,78 (3H, с), 1,91-2,00 (2H, м), 2,14 (2H, т, J=7,5Гц), 2,27 (2H, т, J=7,5Гц), 2,59 (1H, д, J=16Гц), 2,90 (1H, д, J=16Гц), 2,91 (1H, дд, J=14, 9Гц), 3,16 (1H, дд, J=14, 4,5Гц), 3,20 (1H, д, J=8,5Гц), 3,75 (3H, с), 4,48 (2H, д, J=6,5Гц), 4,64 (1H, дд, J=9, 4,5Гц), 5,41-5,49 (1H, м), 5,52-5,60 (2H, м), 6,80 (2H, д, J=8,5Гц), 7,11 (2H, д, J=8,5Гц).

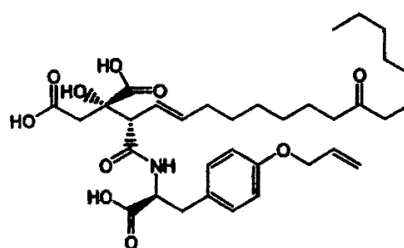
Крім того, наступні сполуки можуть бути синтезовані згідно з методиками подібними тим, що описані вище.



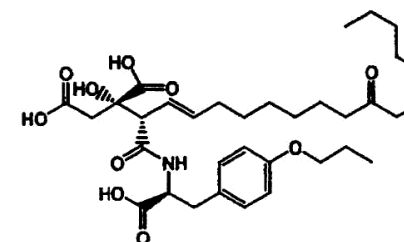
№. 16



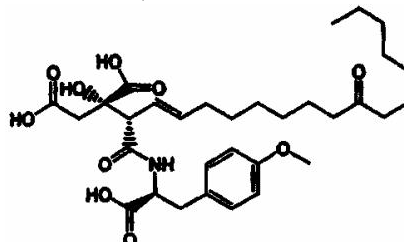
№. 17



№. 18



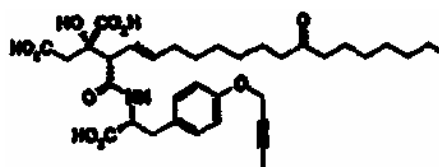
№. 19



№. 20

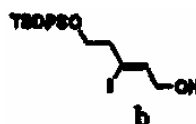
Крім того, за допомогою прикладів описується спосіб одержання сполуки формули (I) представленого винаходу і фармакологічно активної сполуки формули (I).

Приклад 14



21

1-1 (Стадія 1-1)



Згідно з способом описаним в літературі [J. Org. Chem. 1989,45, 5522, B.E. Marron, et al.], синтезували сполуку а (70,1г) формули:



і розчин цієї сполуки в безводному діетиловому етері (700мл) охолоджували до 0°C, і до нього повільно додавали біс(2-метоксиетокси)алюмогідриднатрію (414ммоль, 121мл, 70% толуольний розчин). Баню з льодом прибирали через 5 хвилин після завершення додавання реагенту і перемішування продовжували при кімнатній температурі протягом однієї години. Реакційну суміш охолоджували до 0°C і до неї повільно додавали безводний етилацетат (19,8мл, 203ммоль). Потім суміш перемішували при цій температурі протягом 10 хвилин, охолоджували до -78°C, після чого додавали йод (76,1г, 300ммоль). Температуру суміші поступово піднімали до кімнатної температури протягом 2 годин до завершення реакції. До реакційної суміші додавали водний розчин гідросульфату натрію і потім етилацетат. Потім реакційний розчин піддавали фільтруванню крізь целіт, органічний шар відокремлювали і водний шар знову екстрагували етилацетатом. Об'єднані органічні шари сушили над безводним сульфатом натрію, їх концентрували при пониженому тиску одержуючи неочищену вказану в заголовку сполуку (100г) як світло-коричневе масло. Одержаний таким чином неочищений продукт використовували в наступній реакції.

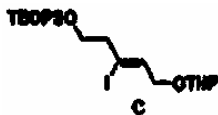
Фізико-хімічні властивості Сполуки б

Молекулярна вага 466

БША-МС (позитивний метод, матрикс m-NBA) 467 (M+H⁺)

¹H-ЯМР (в дейтерохлороформі) значення хімічного зсуву δ: 1,04 (9H, с), 1,44(1H, т, J=5Гц), 2,73 (2H, т, J=6Гц), 3,80 (2H, т, J=6Гц), 4,18 (2H, т, J=5Гц), 5,91 (1H, т, J=5Гц), 7,35-7,46 (6H, м), 7,65-7,69 (4H, м)

1-2 (стадія 1-2)



Розчин (300мл) сполуки б одержаної у зазначеній вище реакції в дихлорметані охолоджували до 0°C і до нього додавали дигідропіран (22,7мл, 248ммоль). До цього розчину додавали паратолуолсульфонат піридинію (260мг, 1ммоль). Через одну годину, до суміш додавали водний розчин бікарбонату натрію до припинення реакції. Відокремлений органічний шар промивали насиченим водним розчином NaCl і сушили над безводним сульфатом натрію, потім концентрували при пониженому тиску. Одержану неочищену сполуку с (108г) використовували без очищення для наступної реакції.

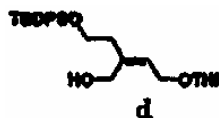
Фізико-хімічні властивості Сполуки с

Молекулярна вага 550

БША-МС (позитивний метод, матрикс m-NBA) 551 (M+H⁺)

¹H-ЯМР (в дейтерохлороформі) значення хімічного зсуву δ: 1,04 (9H, с), 1,49-1,91 (6H, м), 2,74 (2H, т, J=6Гц), 3,46-3,58 (2H, м), 3,76 (2H, т, J=6Гц), 3,82-3,93 (1H, м), 4,06 (1H, дд, J=13, 6Гц), 4,27 (1H, дд, J=13,6Гц), 4,65 (1H, т, J=3Гц), 5,91 (1H, т, J=5Гц), 7,35-7,43 (6H, м), 7,65-7,69 (4H, м)

1-3 (стадія 1-3)



Неочищену сполуку с (4,73г) розчиняли в безводному діетиловому етері (30мл) і охолоджували до -78°C. Повільно додавали трет-бутилітій (17,2ммоль, 10,7мл, 1,6N пентановий розчин). Суміш перемішували при цій температурі протягом однієї години, додавали параформальдегід (18,9ммоль, 570мг) і суміш перемішували при цій температурі протягом 30 хвилин. Температуру суміші піднімали до 0°C і перемішували протягом години. Додавали водний хлорид амонію до припинення реакції і екстрагували етилацетатом. Водний шар екстрагували малою кількістю етилацетату і об'єднаний органічний шар промивали насиченим водним розчином NaCl, і потім сушили над безводним сульфатом натрію. Неочищений продукт одержаний концентруванням при пониженому тиску очищали за допомогою колонкової хроматографії (сілікагель, гексан-етилацетат 9:1-4:1) одержуючи сполуку d (1,635г) як безбарвне масло.

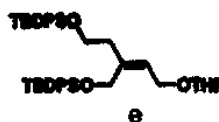
Фізико-хімічні властивості Сполуки d

Молекулярна вага 454

БША-МС (позитивний метод, матрикс m-NBA) 455 (M+H⁺)

¹H-ЯМР (в дейтерохлороформі) значення хімічного зсуву δ: 1,04 (9H, с), 1,49-1,89 (6H, м), 2,41 (2H, т, J=6Гц), 3,03 (1H, т, J=6Гц), 3,47-3,58 (2H, м), 3,75-3,92 (3H, м), 4,08-4,26 (4H, м), 4,68 (1H, т, J=3Гц), 5,53 (1H, т, J=7Гц), 7,35-7,47 (6H, м), 7,64-7,68 (4H, м)

1-4 (стадія 1-4)



Розчин (2мл) сполуки d (344мг, 0,76ммоль) і імідазолу (77мг, 1,14ммоль) в безводному N,N-диметилформаміді охолоджували до 0°C і додавали трет-бутилдифенілхлорсилан (0,2мл, 0,76ммоль) і перемішували суміш протягом 2 годин. Додавали водний розчин хлориду амонію до припинення реакції і реакційну суміш екстрагували гексаном. Органічний шар двічі промивали водою, потім насиченим водним розчином NaCl і сушили над безводним

сульфатом натрію. Концентрували при пониженому тиску одержуючи неочищену сполуку е (554мг) як безбарвне масло.

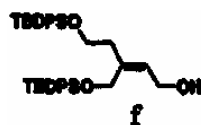
Фізико-хімічні властивості Сполуки є

Молекулярна вага 692

БША-МС (позитивний метод, матрикс m-NBA)
715 (M+Na⁺)

¹H-ЯМР (в дейтерохлороформі) значення хімічного зсуву δ: 1,00 (9H, c), 1,04 (9H, c), 1,38-1,82 (6H, м), 2,49 (2H, т, J=7Гц), 3,29-3,42 (1H, м), 3,63-3,85 (4H, м), 4,00-4,09 (1H, м), 4,14 (2H, c), 4,46 (1H, т, J=3Гц), 5,43 (1H, т, J=7Гц), 7,29-7,48 (12H, м), 7,57-7,78 (8H, м)

1-5 (Стадія 1-5)



Пара-толуолсульфонат піридинію (90мг, 0,36ммоль) додавали до розчину (6мл) сполуки е (1,16г, 1,67ммоль) в етанолі і суміш перемішували при 60°C протягом 3,5 годин. Розчин охолоджували до кімнатної температури, додавали водний насичений розчин бікарбонату натрію і екстрагували етилацетатом. Органічний шар промивали послідовно водою і насиченим водним розчином NaCl і сушили над безводним сульфатом натрію. Концентрували при пониженому тиску і неочищений продукт одержаний таким чином очищали за допомогою колонкової хроматографії (силікагель, гексан-етилацетат 20:1) одержуючи сполуку f (825мг, 81%) як безбарвне масло.

Фізико-хімічні властивості Сполуки f

Молекулярна вага 608

БША-МС (позитивний метод, матрикс m-NBA)
631 (M+Na⁺)

¹H-ЯМР (в дейтерохлороформі) значення хімічного зсуву δ: 1,01 (9H, c), 1,01 (9H, c), 1,23 (1H, т, J=6Гц), 2,41 (2H, т, J=7Гц), 3,75 (2H, т, J=7Гц), 3,90 (2H, т, J=6Гц), 4,14 (2H, c), 5,47 (1H, т, J=7Гц), 7,29-7,47 (12H, м), 7,57-7,75 (8H, м)

1-6 (стадія 1-6)



Круглдонну колбу, в яку поміщений, ротор нагрівали і сушили при пониженому тиску і потім поміщали в атмосферу азоту і в неї вносили безводний дихлорметан (60мл) і потім охолоджували до -20°C. Послідовно додавали тетра-ізопропоксид титану (2,33мл, 7,88ммоль) і діетил L-(+)-тарtrat (1,62мл, 9,46ммоль) і потім перемішували суміш протягом 15 хвилин, додавали розчин (30мл) сполуки f (4,80г, 7,88ммоль) в дихлорметані і перемішували суміш протягом 15 хвилин. Суміш охолоджували до -25°C і по вільно по краплям додавали трет-бутилгідропероксид (5,25мл, 15,8ммоль, 3N дихлорметановий розчин). Після завершення

додавання, суміш перемішували при -20°C протягом 2 годин і додавали диметилсульфід (1,1мл) і перемішували суміш при цій температурі протягом ще години. Потім до реакційної суміші додавали 10% водний розчин винної кислоти і суміш перемішували протягом 30 хвилин, і перемішували при кімнатній температурі протягом однієї години. Органічний шар відокремлювали і водний шар екстрагували малою кількістю дихлорметану. Об'єднаний органічний шар сушили над безводним сульфатом натрію. Неочищений продукт одержаний концентруванням при пониженому тиску очищали за допомогою колонкової хроматографії (силікагель, гексан-етилацетат 9:1) одержуючи сполуку g (4,78г, 97%) як безбарвне масло. Асиметричний вихід (>95%ee) визначали за допомогою ЯМР аналізу відповідного МТРА естеру.

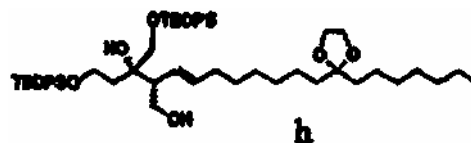
Фізико-хімічні властивості Сполуки g

Молекулярна вага 624

БША-МС (позитивний метод, матрикс m-NBA)
647 (M+Na⁺)

¹H-ЯМР (в дейтерохлороформі) значення хімічного зсуву δ: 1,02 (9H, c), 1,03 (9H, c), 1,72 (1H, т, J=6Гц), 1,82 (1H, дт, J=14, 7Гц), 2,23 (1H, дт, J=14, 6Гц), 3,17 (1H, дд, J=6, 5Гц), 3,55-3,79 (6H, м), 7,32-7,45 (12H, м), 7,60-7,65 (8H, м)

1-7 (стадія 1-7)



В атмосфері азоту, бісциклопентадієнілцирконійгідрохлорид (10,11г, 37,2ммоль) додавали до розчину (100мл) сполуки а (10,45г, 37,2ммоль) одержаної на Стадії 2-3 прикладу 1 приготування описаному вище в безводному тетрагідрофурані при кімнатній температурі і суміш перемішували протягом 30 хвилин. Розчин одержаний таким чином охолоджували до -78°C і додавали метилмагнійхлорид (24,7мл, 74ммоль, 3N тетрагідрофурановий розчин) і перемішували суміш протягом 5 хвилин. До цього розчину додавали йодид міді (500мг, 7,2ммоль) і температуру суміші поступово піднімали до -30°C. Протягом 20 хвилин додавали розчин (70мл) сполуки g (4,49г) в безводному тетрагідрофурані і після завершення додавання суміш перемішували при -25°C протягом ночі. Повільно додавали насичений водний розчин хлориду амонію до припинення реакції і температуру суміші поступово піднімали до кімнатної температури. Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 10 годин і білу твер. речовину, що випала в осад, видаляли фільтруванням крізь целіт. Целіт добре промивали етилацетатом до видалення органічного шару. Водний шар екстрагували малою кількістю етилацетату і об'єднаний органічний шар промивали насиченим водним розчином хлориду амонію, потім сушили над безводним сульфатом натрію. Концентрували при пониженому тиску і неочищений продукт

одержаний таким чином очищали за допомогою колонкової хроматографії (силікагель, гексан-етилацетат 20:1-9:1) одержуючи сполуку h (5,96г, 91%) як блідо-жовте масло.

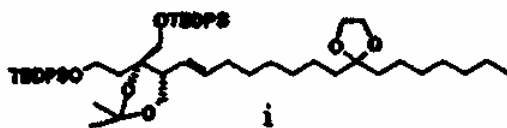
Фізико-хімічні властивості Сполуки h

Молекулярна вага 907

БША-МС (негативний метод, матрикс m-NBA) 906 (M-H⁺)

¹H-ЯМР (в дейтерохлороформі) значення хімічного зсуву δ : 0,88 (3H, т, J=7Гц), 0,99 (9H, с), 1,04 (9H, с), 1,18-1,63 (22H, м), 1,78-2,01 (4H, м), 2,44-2,57 (1H, м), 3,00 (1H, т, J=6Гц), 3,59-3,92 (10H, м), 4,28 (1H, с), 5,37-5,55 (2H, м), 7,29-7,65 (20H, м)

1-8 (стадія 1-8)



Сполуку h (5,30г, 5,84ммоль) розчиняли в дихлорметані (200мл) і 2,2-додавали диметоксипропан (150мл) і пара-толуолсульфонат піридинію (15мг, 0,058ммоль) і перемішували суміш при кімнатній температурі протягом ночі. Додавали насичений водний розчин бікарбонату натрію до припинення реакції і суміш двічі екстрагували дихлорметаном. Сушили над безводним сульфатом натрію і концентрували при пониженому тиску. Неочищений продукт одержаний таким чином очищали за допомогою колонкової хроматографії (силікагель, гексан-етилацетат 20:1) одержуючи сполуку i (4,69г, 86%) як блідо-жовте масло.

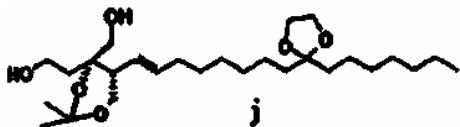
Фізико-хімічні властивості Сполуки i

Молекулярна вага 947

БША-МС (негативний метод, матрикс m-NBA) 946 (M-H⁺)

¹H-ЯМР (в дейтерохлороформі) значення хімічного зсуву δ : 0,88 (3H, т, J=6Гц), 1,02 (9H, с), 1,05 (9H, с), 1,14-1,63 (28H, м), 1,78-2,16 (4H, м), 2,41-2,51 (1H, м), 3,47 (1H, д, J=10Гц), 3,64-3,86 (6H, м), 3,92 (с, 4H), 5,36-5,42 (2H, м), 7,28-7,47 (12H, м), 7,61-7,69 (8H, м)

1-9 (стадія 1-9)



Розчин (50мл) сполуки i (4,39г, 4,64ммоль) в тетрагідрофурані охолоджували до 0°C і додавали фторид тетрабутиламонію (10,2мл, 10,2ммоль, 1M тетрагідрофурановий розчин) і оцтову кислоту (0,53мл, 9,27ммоль). Температуру суміші поступово збільшували до кімнатної температури і суміш перемішували протягом 2 днів. Додавали насичений водний хлорид амонію і суміш двічі екстрагували дихлорметаном. Об'єднаний органічний шар промивали водним розчином бікарбонату натрію і сушили над безводним сульфатом натрію. Концентрували при пониженому тиску і неочищений продукт одержаний таким

чином очищали за допомогою колонкової хроматографії (силікагель, гексан:етилацетат 9:1-3:2) одержуючи сполуку j (1,73г, 81%) як блідо-жовте масло.

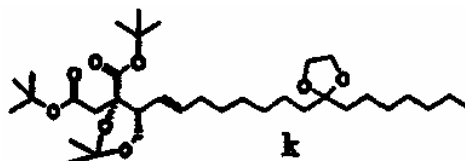
Фізико-хімічні властивості Сполуки j

Молекулярна вага 470

БША-МС (позитивний метод, матрикс m-NBA) 493 (M+Na⁺)

¹H-ЯМР (в дейтерохлороформі) значення хімічного зсуву δ : 0,88 (3H, т, J=6Гц), 1,17-1,73 (26H, м), 1,91-2,16 (4H, м), 2,44 (1H, шс), 2,73 (1H, дт, J=6,10Гц), 2,95 (1H, шс), 3,48 (1H, д, J=11Гц), 3,63-4,01 (м, 10H), 5,15 (1H, дд, J=15,9Гц), 5,55 (1H, дт, J=15,7Гц)

1-10 (стадія 1-10)



В атмосфері азоту, розчин (17мл) оксалілхлориду (0,575мл, 6,6ммоль) безводного дихлорметану охолоджували до -78°C і по краплям додавали розчин (1мл) диметилсульфоксиду (0,936мл, 13,2ммоль) в дихлорметані і перемішували суміш протягом 15 хвилин. По краплям повільно додавали розчин (5мл) сполуки j (388мг, 0,824ммоль) в дихлорметані. Суміш перемішували при цій температурі протягом однієї години, додавали триетиламін (3мл, 21,4ммоль) і перемішували суміш ще 30 хвилин. Охолоджувальну баню прибирали і крізь розчин пропускали струм азоту для видалення низькокиплячих сполук і потім сушили при пониженому тиску. До залишку додавали діетиловий етер (15мл) і нерозчинні речовини видаляли фільтруванням, потім концентрували. Цю методику повторювали двічі і залишок одержаний таким чином негайно використовували для наступної реакції.

Згаданий вище діальдегід розчиняли в 2-метил-2-пропанолі (24мл) і 2-метил-2-бутені (6мл) і суміш охолоджували до приблизно 5-7°C. До цього розчину повільно по краплям додавали водний розчин (7,45мл) хлориту натрію (745мг, 8,24ммоль) і дигідрофосфату натрію (745мг, 6,21ммоль). Через 2 години, суміш охолоджували до 0°C і додавали водний розчин дигідрофосфату натрію доводячи рН до приблизно 5. Суміш екстрагували три рази дихлорметаном і об'єднаний органічний шар промивали водним насиченим розчином NaCl, сушили над безводним сульфатом натрію. Після фільтрування, блідо-жовте масло одержане концентруванням при пониженому тиску використовували для наступної реакції без подальшого очищення.

Неочищену дикарбонову кислоту розчиняли в ди-трет-бутилацетаті N.N-диметилформаміду (4,5мл) і суміш перемішували при 70°C протягом однієї години. Низькокиплячу речовину відганяли при пониженому тиску. Залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії (силікагель,

гексан-етилацетат 20:1) одержуючи сполуку k (340мг, 60%) як біло-жовте масло.

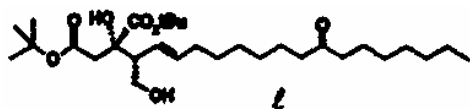
Фізико-хімічні властивості Сполуки k

Молекулярна вага 610

БША-МС (позитивний метод, матрикс m-NBA) (M+H⁺) 611, (M+Na⁺) 633

¹H-ЯМР (в дейтерохлороформі) значення хімічного зсуву δ : 0,88 (3H, т, J=6Гц), 1,18-1,64 (46H, м), 1,99 (2H, к, J=7Гц), 2,69 (2H, ABq, J=15, 18Гц), 2,93 (1H, к, J=7Гц), 3,82-3,88 (2H, м), 3,92 (4H, с), 5,51-5,69 (2H, м)

1-11 (стадія 1-11)



Сполуку k (340мг, 0,556ммоль) розчиняли в тетрагідрофурані (1мл) і додавали 80% водний розчин оцтової кислоти (10мл) і перемішували суміш при кімнатній температурі протягом 3,5 годин. Потім суміш повільно додавали до насиченого розчину бікарбонату натрію до нейтралізації оцтової кислоти, суміш двічі екстрагували етилацетатом. Сушили над безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували при пониженому тиску одержуючи сполуку 1 (290мг, 99%) як біло-жовте масло.

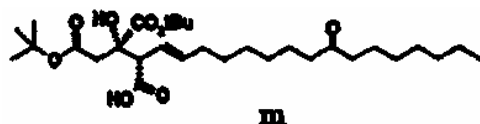
Фізико-хімічні властивості Сполуки l

Молекулярна вага 526

БША-МС (позитивний метод, матрикс m-NBA) (M+H⁺) 527, (M+Na⁺) 549

¹H-ЯМР (в дейтерохлороформі) значення хімічного зсуву δ : 0,88 (3H, т, J=7Гц), 1,18-1,68 (36H, м), 2,01 (2H, к, J=7Гц), 2,25-2,41 (5H, м), 1,99 (1H, д, J=7Гц), 2,04 (1H, д, J=7Гц), 3,62-3,82 (2H, м), 3,99 (1H, с), 5,42 (1H, дд, J=9,15Гц), 5,58 (1H, дт, J=16,6Гц)

1-12 (стадія 1-12)



Ацетон (45мл) охолоджували до 0°C і додавали реагент Джоунеса (0,48мл, 0,9ммоль, 1,89N). До цієї суміш повільно по краплям додавали розчин (3мл) сполуки 1 (216мг, 0,41ммоль) в ацетоні. Потім суміш перемішували при цій температурі протягом однієї години, додавали водний розчин гідросульфату натрію до зникнення жовтого кольору реакційного розчину і появи темно-зеленого осаду і потім реакцію зупинялась. Додавали насичений водний розчин NaCl (20мл) і суміш двічі екстрагували дихлорметаном. Об'єднаний органічний шар сушили над безводним сульфатом натрію. Його концентрували при пониженому тиску і залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (дихлорметан-метанол 50:1-20:1) одержуючи сполуку m (198мг, 89%) як біло-жовте масло.

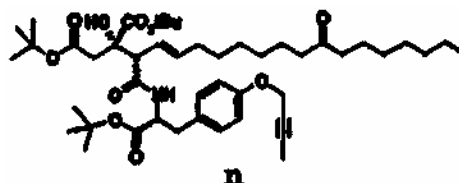
Фізико-хімічні властивості Сполуки n

Молекулярна вага 541

ЕІ (PX/МС позитивний метод) (M+H⁺) 542

¹H-ЯМР (в дейтерохлороформі) значення хімічного зсуву δ : 0,88 (3H, т, J=6Гц), 1,16-1,67 (36H, м), 1,99 (2H, к, J=6Гц), 2,35 (4H, т, J=8Гц), 2,70 (1H, д, J=16Гц), 2,90 (1H, д, J=16Гц), 3,28 (1H, д, J=9Гц), 5,52 (1H, дд, J=9, 15Гц), 5,68 (1H, дт, J=15,5Гц)

1-13 (стадія 1-13)



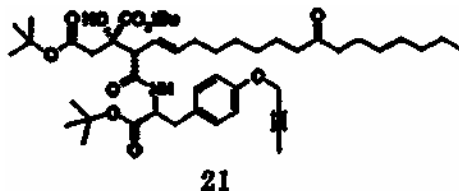
Розчин (1мл) сполуки m (6,4мг, 0,012ммоль) і гідроксид т-бутилового естеру (S)-4-(2-бутинілокси)феніланіну (4,6мг, 0,014ммоль) в N,N-диметилформаміді охолоджували до -10°C і послідовно додавали N,N-діізопропілетиламін (0,005мл, 0,026ммоль) і O-(7-азабензотіазол-1-іл)-N,N,N',N'-тетраметилуранію гексафторфосфат (7,0мг, 0,017ммоль). Температуру суміші повільно піднімали до кімнатної температури і суміш перемішували протягом ночі. Додавали водний розчин хлориду амонію до зупинки реакції і суміш екстрагували етилацетатом. Потім органічний шар промивали послідовно двічі водою і насиченим водним розчином NaCl, сушили над безводним сульфатом натрію. Після фільтрування і концентрування при пониженому тиску, залишок очищали за допомогою тонкошарової хроматографії на силікагелі (гексан-етилацетат 7:3) одержуючи сполуку n (8,4мг, 88%) як безбарвну тверду речовину.

Фізико-хімічні властивості Сполуки n

ЕІ (PX/МС позитивний метод) 834 (M+Na⁺)

¹H-ЯМР (в дейтерохлороформі) значення хімічного зсуву δ : 0,86 (3H, т, J=6Гц), 1,12-1,68 (45H, м), 1,85 (3H, т, J=1,9Гц), 1,90-2,03 (2H, м), 2,29-2,43 (4H, м), 2,59 (1H, д, J=16,5Гц), 2,76 (1H, д, J=16,5Гц), 2,97-3,14 (3H, м), 4,22 (1H, с), 4,57-4,74 (3H, м), 5,46 (1H, дд, J=9,2, 15,2Гц), 5,64 (1H, дт, J=6,6, 15,2Гц), 6,86 (2H, д, J=8,6Гц) 7,01 (1H, д, J=7,9Гц), 7,13 (2H, д, J=8,6Гц)

1-14 (стадія 1-14)

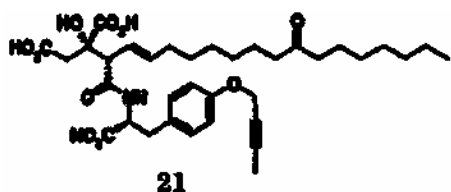


Розчин (3мл) сполуки n (8,4мг) в дихлорметані охолоджували до 0°C і послідовно додавали анізол (0,01мл) і трифтороцтову кислоту (1мл). Температуру суміші повільно піднімали до кімнатної температури і суміш перемішували протягом ночі. Потім реакційний розчин концентрували при пониженому тиску, його двічі азеотропували з бензолом. Залишок очищали використовуючи Megabond Elute Diol (500мг,

61

Varian) (дихлорметан-метанол=20:1) одержуючи сполуку 21 (5,3мг, 80%) як безбарвну тверду речовину.

Фізико-хімічні властивості Сполуки 21



Молекулярна вага 643

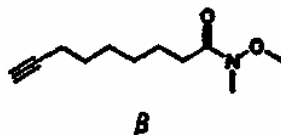
ESI (PX/МС позитивний метод) 644 ($M+H^+$)

1H -ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ : 0,90 (3H, т, J=7Гц), 1,19-1,38 (14H, м), 1,42-1,60 (4H, м), 1,82 (3H, т, J=2Гц), 1,89-2,02 (2H, м), 2,44 (4H, т, J=7Гц), 2,58 (1H, д, J=16Гц), 2,78-2,98 (2H, м), 3,09-3,23 (2H, м), 4,53-4,67 (3H, м), 5,39-5,61 (2H, м), 6,83 (2H, д, J=9Гц), 7,13 (2H, д, J=9Гц)

Препаративний приклад 1

Спосіб синтезу сполуки α , що використовується на стадії 1-7 Прикладу 14 пояснюється в Препаративному прикладі 1.

Стадія 2-1



8-Нонінову кислоту (50г, 0,32моль) додавали по краплям до розчину (500мл) гідрохлориду N,О-диметилгідроксиламіну (63,3г, 0,65моль), водорозчинного гідрохлориду карбодіміду (WSC-HC1) (124г, 0,65моль), 1-гідроксибензотриазолу (HOBT) (99,3г, 0,65моль) і N,N-діізопропілетиламіну (DIPEA) (220мл, 1,3моль) в дихлорметані при 0°C і суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 15 годин. Реакційний розчин промивали насиченим водним розчином хлориду амонію (400мл), насиченим водним розчином гідрокарбонату натрію (400мл) і насиченим водним розчином NaCl (300мл). Потім органічний шар дегідратували і сушили над безводним сульфатом натрію, розчинник відганяли при пониженому тиску. Залишок одержаний таким чином очищали за допомогою колонкової хроматографії (Wako gel C-300, 500г, Wako Purechemical) одержуючи сполуку β (60г, 94%) як безбарвне масло, використовуючи як елюент гексан/етилацетат (20:1).

Фізико-хімічні властивості Сполуки β

Молекулярна вага 197

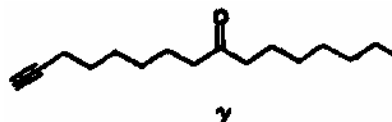
ESI (PX/МС позитивний метод) 198 ($M+H^+$)

1H -ЯМР (в дейтерохлороформі) значення хімічного зсуву: 1,30-1,70 (8H, м), 1,94 (1H, т, J=2,5Гц), 2,19 (2H, дт, J=2,5, 7Гц), 2,42 (2H, т, J=7,5Гц), 3,18 (3H, с), 3,68 (3H, с)

Стадія 2-2

80742

62



1М Розчин (100мл, 0,1моль) броміду н-гептилмагнію в діетиловому етері по краплям додавали до розчину (100мл) сполуки β , описаної вище, (7г, 0,035моль) в тетрагідрофурани при -10°C і суміш перемішували при цій температурі протягом 2 годин і 30 хвилин. Додавали до реакційного розчину насичений водний розчин хлориду амонію (30мл) і воду (100мл) і перемішували суміш при кімнатній температурі протягом 10 хвилин. Суміш розводили водою (300мл) і двічі екстрагували етилацетатом (400мл). Органічний шар об'єднували і промивали насиченим водним розчином NaCl (30мл). Дегідратували і сушили над безводним сульфатом натрію і розчинник відганяли при пониженому тиску. Залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії (Wako gel C-300, 250г, Wako Purechemical) одержуючи сполуку γ (7,8 г, 93%) як безбарвне масло і гексан/етилацетат (100:1) як елюент.

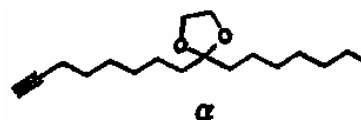
Фізико-хімічні властивості Сполуки γ

Молекулярна вага 236

EI-МС 236 (M^+)

1H -ЯМР (в дейтерохлороформі) значення хімічного зсуву δ : 0,88 (3H, т, J=6,5Гц), 1,23-1,63 (18H, м), 1,94 (1H, дт, J=0,5, 2,5Гц), 2,18 (2H, дт, J=2,5, 7Гц), 2,36-2,42 (4H, м)

Стадія 2-3



Згадану вище сполуку γ (7,8г, 0,033моль), етиленгліколь (18мл, 0,33моль) і моногідрат толуолсульфонової кислоти (125мг, 0,66ммоль) до бензолу (150мл) і кип'ятили з холодильником спорядженим насадкою Діна-Старка протягом 20 годин. Потім залишали стояти до охолодження, реакційний розчин промивали насиченим водним розчином гідрокарбонату натрію (30мл), водою (50мл) і потім насиченим водним розчином NaCl (50мл). Органічний шар дегідратували і сушили над безводним сульфатом натрію і розчинник відганяли при пониженому тиску. Залишок одержаний таким чином очищали використовуючи Megabond Elute Silica Gel (10г, Varian) одержуючи сполуку α (8,9г, 97%) як безбарвне масло і гексан/етилацетат (20:1) як елюент.

Фізико-хімічні властивості Сполуки α

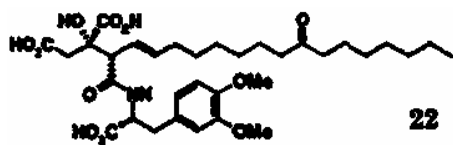
Молекулярна вага 280

EI-МС 280 (M^+)

1H -ЯМР (в дейтерохлороформі) значення хімічного зсуву δ : 0,88 (3H, т, J=6,5Гц), 1,23-1,63 (22H, м), 1,93 (1H, т, J=2,5Гц), 2,18 (2H, дт, J=2,5, 7Гц), 3,92 (4H, с)

Сполуки наступних Прикладів 15-19 синтезували таким самим чином як описано в Прикладі 14.

Приклад 15



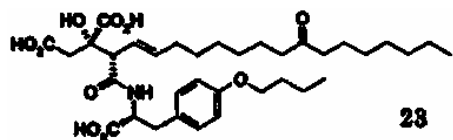
Фізико-хімічні властивості Сполуки 22

Молекулярна вага 635

ESI (PX/МС позитивний метод) 636 ($M+H^+$)

1H -ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ : 0,89 (3H, т, J=7,0Гц), 1,17-1,36 (14H, м), 1,45-1,60 (4H, м), 1,90-2,02 (2H, м), 2,41-2,45 (4H, м), 2,53 (1H, д, J=16,0Гц), 2,87 (1H, д, J=16,0Гц), 2,92 (1H, дд, J=8,8, 14,0Гц), 3,16-3,20 (2H, м), 3,78 (3H, с), 3,80 (3H, с), 4,67 (1H, дд, J=4,8, 9,2Гц), 5,47-5,58 (2H, м), 6,75 (1H, м), 6,82-6,84 (2H, м)

Приклад 16



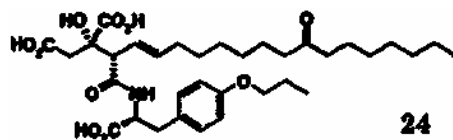
Фізико-хімічні властивості Сполуки 23

Молекулярна вага 647

ESI (PX/МС позитивний метод) 648 ($M+H^+$)

1H -ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ : 0,80 (3H, т, J=7Гц), 0,98 (3H, т, J=7Гц), 1,19-1,62 (20H, м), 1,91-2,03 (2H, м), 2,38-2,46 (4H, м), 2,57 (1H, д, J=8Гц), 2,84-2,96 (2H, м), 3,11-3,23 (2H, м), 3,92 (2H, т, J=7Гц), 4,63 (1H, дд, J=9, 5Гц), 5,42-5,61 (2H, м), 6,80 (2H, д, J=9Гц), 7,11 (2H, д, J=9Гц)

Приклад 17



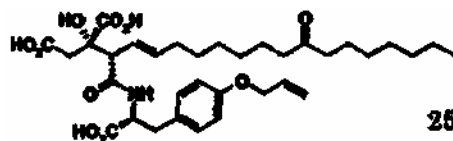
Фізико-хімічні властивості Сполуки 24

Молекулярна вага 633

ESI (PX/МС позитивний метод) 634 ($M+H^+$)

1H -ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ : 0,90 (3H, т, J=7Гц), 1,03 (3H, т, J=7Гц), 1,17-1,40 (14H, м), 1,43-1,60 (4H, м), 1,77 (2H, к, J=7Гц), 1,91-2,01 (2H, м), 2,39-2,49 (4H, м), 2,56 (1H, д, J=17Гц), 2,80-2,97 (2H, м), 3,10-3,20 (2H, м), 3,88 (2H, т, J=7Гц), 4,64 (1H, дд, J=9, 5Гц), 5,42-5,61 (2H, м), 6,80 (2H, д, J=9Гц), 7,12 (2H, д, J=9Гц)

Приклад 18



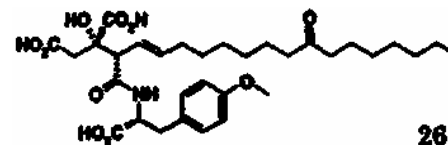
Фізико-хімічні властивості Сполуки 25

Молекулярна вага 631

ESI (PX/МС позитивний метод) 632 ($M+H^+$)

1H -ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ : 0,89 (3H, т, J=7Гц), 1,14-1,38 (14H, м), 1,42-1,58 (4H, м), 1,89-2,01 (2H, м), 2,37-2,46 (4H, м), 2,57 (1H, д, J=16Гц), 2,82-2,96 (2H, м), 3,11-3,22 (2H, м), 4,45-4,52 (2H, м), 4,63 (1H, дд, J=9, 4Гц), 5,22 (1H, дд, J=10, 1Гц), 5,37 (1H, дд, J=17,1Гц), 5,45-5,59 (2H, м), 5,97-6,10 (1H, м), 6,82 (2H, д, J=9Гц), 7,14 (2H, д, J=9Гц)

Приклад 19



Фізико-хімічні властивості Сполуки 26

Молекулярна вага 605

ESI (PX/МС позитивний метод) 606 ($M+H^+$)

1H -ЯМР (в метанолі d-4) значення хімічного зсуву δ : 0,90 (3H, т, J=7Гц), 1,18-1,40 (14H, м), 1,42-1,58 (4H, м), 1,91-2,01 (2H, м), 2,38-2,47 (4H, м), 2,53 (1H, д, J=15Гц), 2,80-2,97 (2H, м), 3,11-3,21 (2H, м), 3,75 (3H, с), 4,64 (1H, дд, J=9,5Гц), 5,44-5,62 (2H, м), 6,81 (2H, д, J=9Гц), 7,13 (2H, д, J=9Гц)

Дослідження реплікону

Одержували конструкт, в якому ген люциферази світлячку був вставлений в репортерний ген в ВГС-РНК для дослідження кількості копій ВГС-РНК. Ген люциферази вставляли у формі, що зливається з геном стійкості до неоміцину безпосередньо за IRES (сайт внутрішньої вставки рибосоми) гену ВГС у відповідності з методикою Krieger, et al. (J. Virol. 75:4614). Після синтезування РНК in vitro, її вводили в клітини Huh7 за допомогою електропорації з наступним виділенням як G418 стійкого клону.

Клітини реплікону ВГС люциферази світляка (3-1) суспендували в МЕМ Дульбекко (Gibco Cat. №10569-010), що містить 5% сироватки ембріону теляти (Hyclone Cat. №SH30071,03) і інюлювали в 96-луночний планшет а кількості 5000клітин/лунку після чого культивували протягом ночі в 5% CO₂ і 37°C. Через приблизно 20 годин, до кожної лунки додавали 10мкл розведеної сполуки після чого культивували протягом 3 днів. Проводили дві серії досліджень на планшеті і одну з серій дослідження проводили використовуючи білі планшети, в той час як в іншій серії використовували прозорі планшети. Після завершення культивування, білі планшети використовували з системою дослідження люциферази Steady-Glo (Promega Cat. №E2520). Більш особливо, 100мкл реагенту поміщали в кожну лунку і потім перемішували 3-4 рази за допомогою піпетки і залишали стояти протягом 5 хвилин, вимірювали люмінесценцію використовуючи 1450 MicroBeta TRILUX (WALLAC). Значення у відсутності клітин використовували для визначення фонового рівня і це значення віднімали від всіх значень для розрахунку значення IC₅₀ (концентрація, що дає 50% інгібування) лікарського засобу виходячи з 0% інгібування. Що спостерігається у відсутності лікарського засобу.

Цитотоксичність

Клітинний лічильник Kit-8 (Dojindo Cat. №СК04) використовували для вимірювання цитотоксичності. Більш особливо, 10мкл клітинного лічильника Kit-8 додавали до прозорих планшетів після чого інкубували при 37°C протягом 30-60 хвилин Абсорбцію вимірювали при довжині хвилі 450nm і контрольній довжині хвилі 630nm використовуючи зчитувач 96-луночних планшетів. Значення у відсутності клітин використовували для визначення фонового рівня і це значення віднімали від всіх значень для розрахунку значення CC_{50} (концентрація, що дає 50% інгібування) лікарського засобу виходячи з 0% інгібування. Що спостерігається у відсутності лікарського засобу.

Сполука №	Реплікони IC_{50} [мкМ]	Цитотоксичність CC_{50} [мкМ]
1	0,002	>5
2	0,128	>1
3	0,076	>1
4	0,103	>1
5	0,082	>1
6	0,007	>1
7	0,002	>5
8	0,005	>5
9	0,020	>5
10	0,245	>50
11	0,262	>5
12	0,072	>5
13	0,1	>50
14	0,020	22
15	0,020	>50
21	0,001	>5
22	0,017	>1
23	0,001	>1
24	0,002	>1
25	0,001	>1
26	0,003	>1

Промислова придатність

Сполуки представленого винаходу мають надзвичайну анти-ВГС активність і діють як інгібітори розвитку ВГС і в той же час вони також проявляють незначну цитотоксичність *in vivo*, фармацевтична композиція, що містить сполуки представленого винаходу надзвичайно корисна як анти-ВГС профілактичний/терапевтичний агент.

Посилання

1. Geilach, W. i Nirenberg, H. 1982 The genus *Fusarium* - a pictorial atlas. Mitt. Biol. Bundesanst. Landw. Forstwirtschaft. Berlin-Dahlem 209:1-406.
2. Booth, C 1971. The genus *Fusarium*. CMI, Kew, Surrey, 237pp.
3. Camichael, J.W., Kendrick, B., Connors, I.L. and Sigler, L. 1980. Genera of Hyphomycetes. University of Alberta Press, Edmonton.
4. Gams, W. 1971. *Cephalosporium*-artige Schimmelpilze (Hyphomycetes) Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. 262pp.