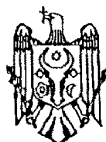




MD 4596 B1 2018.10.31

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală(11) **4596** (13) **B1**
(51) Int.Cl: *A61K 31/706* (2006.01)
A61K 31/16 (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

In termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului

(21) Nr. depozit: a 2016 0063 (22) Data depozit: 2014.11.06 (31) Nr.: 61/902544 (32) Data: 2013.11.11 (33) Țara: US (41) Data publicării cererii: 2016.11.30, BOPI nr. 11/2016	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2018.10.31, BOPI nr. 10/2018 (85) 2016.06.09 (86) PCT/US2014/064412, 2014.11.06 (87) WO 2015/069939 A1, 2015.05.14
(71) Solicitant: GILEAD SCIENCES, INC., US (72) Inventatori: CLARKE Michael O'Neil Hanrahan, US; DOERFFLER Edward, US; MACKMAN Richard L., US; SIEGEL Dustin, US (73) Titular: GILEAD SCIENCES, INC., US (74) Mandatar autorizat: ANDRIEȘ Ludmila	

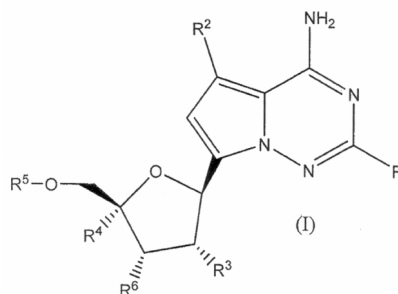
(54) Pirolo[1,2,f][1,2,4] triazine utilizate pentru tratamentul infecțiilor cu virus sincitial respirator

(57) Rezumat:

1

Invenția se referă la compuși de tetrahidrofuranil-pirolo[1,2-f][1,2,4]triazin-4-amină substituiți, având formula (I) pentru tratamentul infecțiilor cu virus *Pneumovirinae*, inclusiv al infecțiilor cu virus respirator sincitial, precum și la compoziții, metode de utilizare și compuși intermediari pentru sinteza compușilor de tetrahidrofuranil-pirolo[1,2-f][1,2,4]triazin-4-amină.

2



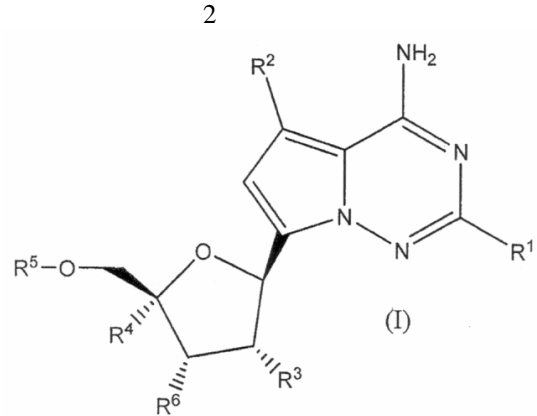
Revendicări: 54

MD 4596 B1 2018.10.31

(54) Pyrrolo[1,2,f][1,2,4]triazines useful for treating respiratory syncytial virus infections

(57) Abstract:

1
The invention relates to substituted tetrahydrofuran-yl-pyrrolo[1,2,f][1,2,4]triazine-4-amine compounds of Formula (I) for treating *Pneumovirinae* virus infections, including respiratory syncytial virus infections, as well as to formulations, methods of use and intermediates for synthesis of tetrahydrofuran-yl-pyrrolo[1,2-f][1,2,4]triazine-4-amine compounds.

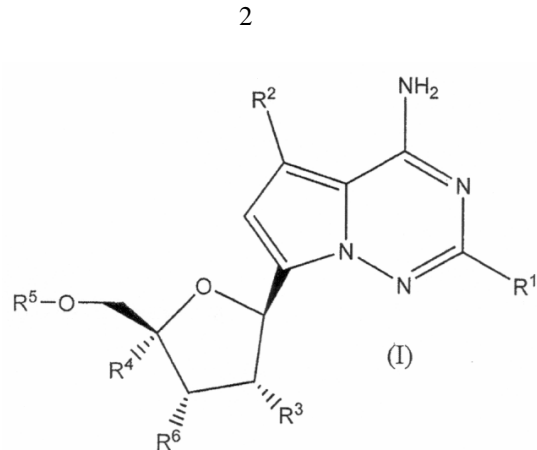


Claims: 54

(54) Пирроло[1,2,f][1,2,4] триазины, используемые для лечения респираторно-синцитиальных вирусных инфекций

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к замещенным соединениям тетрагидрофуранил-пирроло[1,2-f][1,2,4]триазин-4-амина формулы (I), для лечения инфекций вирусом *Pneumovirinae*, включая респираторно-синцитиальные вирусные инфекции, а также к композициям, способам применения и промежуточным соединениям для синтеза соединений тетрагидрофуранил-пирроло[1,2-f][1,2,4]триазин-4-амина.



П. формулы: 54

Descriere:**(Descrierea se publică în redacția solicitantului)**

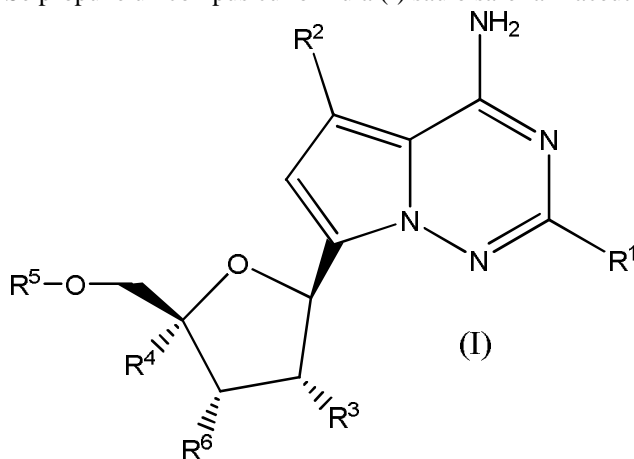
În prezenta invenție se propun compuși de tetrahidrofuranil-pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-amină substituți, metode și compoziții farmaceutice pentru tratamentul infecțiilor cu virusul *Pneumovirinae*, în particular, inclusiv al infecțiilor virale sincitiale respiratorii, precum și metode și compuși intermediari, utilizați pentru prepararea compușilor.

Virusurile *Pneumovirinae* reprezintă virusuri care conțin molecula de ARN monocatenară cu polaritate negativă, fiind responsabile pentru numeroase boli răspândite la oameni și la animale. Subfamilia virusurilor *Pneumovirinae* este parte a familiei *Paramyxoviridae* și include virusul sincitial respirator uman (HRSV). Aproape la toți copiii în primii doi ani de viață este prezentă infecția cu HRSV. HRSV este cauza principală a infecțiilor căilor respiratorii inferioare la o vârstă fragedă și în copilărie, și în 0,5% până la 2% din totalul celor infectați este necesară spitalizarea. Persoanele în vârstă și persoanele mature cu afecțiuni cronice ale cordului, pulmonare sau persoanele cu imunosupresie prezintă un risc major de dezvoltare a bolilor severe cu HRSV (<http://www.cdc.gov/rsv/index.html>). În prezent nu este disponibil nici un vaccin pentru prevenirea infecției cu HRSV. Pentru imunoprofilaxie este disponibil un anticorp monoclonal palivizumab, dar utilizarea lui este limitată la copii pentru un risc major, de exemplu, la copiii prematuri sau la copiii cu vicii cardiace congenitale sau cu afecțiuni pulmonare, și costul lui pentru utilizare largă este foarte înalt. În plus, în calitate de agent antiviral unic pentru tratarea infecțiilor cu HRSV a fost aprobat analogul nucleozidei ribavirina, dar acesta are o eficiență limitată. Astfel, există necesitatea unor remedii anti-*Pneumovirinae*.

Exemple de compuși de pirol[2,3-d]pirimidine, utilizați pentru tratarea infecțiilor virale, sunt descrise în literatura brevetară (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14). Persistă necesitatea unor noi agenți antivirali eficienți și cu profiluri de toxicitate acceptabile, care pot fi utilizați în tratamentul infecțiilor virale *Paramyxoviridae*, inclusiv al infecțiilor virale *Pneumovirinae*, cum ar fi infecțiile cu HRSV.

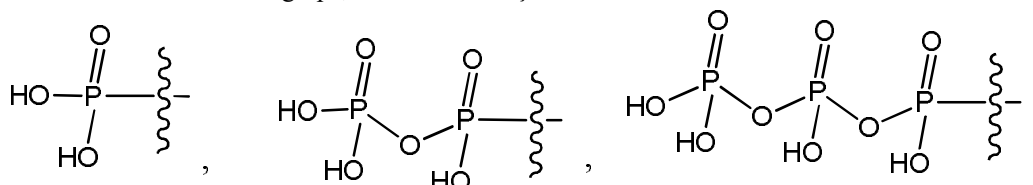
Se propun compuși, metode și compoziții farmaceutice pentru tratamentul infecțiilor, cauzate de virusul din familia *Pneumovirinae*, inclusiv pentru tratamentul infecțiilor, cauzate de virusul sincitial respirator uman.

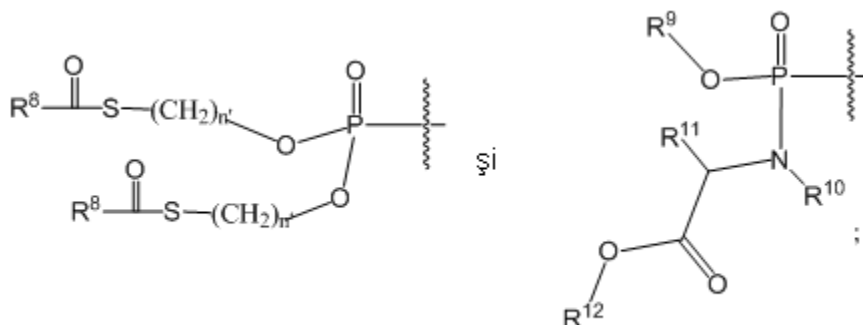
Se propune un compus cu formula (I) sau o sare farmaceutic acceptabil a acestuia:



in care:

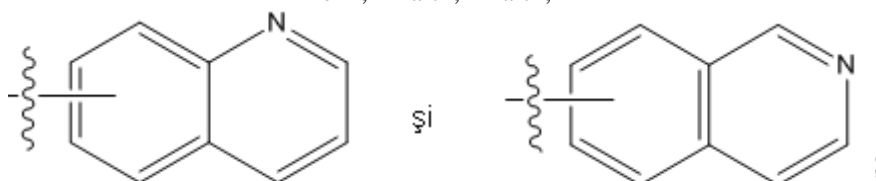
- R¹ reprezintă H sau F;
- R² reprezintă H sau F;
- R³ reprezintă OH sau F;
- R⁴ reprezintă CN, C₁-C₄ alchil, C₂-C₄ alchenil, C₂-C₄ alchinil, C₃-C₄ cicloalchil, azido, halogen sau C₁-C₂ haloalchil;
- R⁶ reprezintă OH;
- R⁵ se selectează din grupa, care include H și:





in care:

- n' se selectează dintre 1, 2, 3 și 4;
- R⁸ se selectează dintre C₁-C₈ alchil, -O-C₁-C₈ alchil, benzil, -O-benzil, -CH₂-C₃-C₆ cicloalchil,
- 5 -O-CH₂-C₃-C₆ cicloalchil și CF₃;
- R⁹ se selectează dintre fenil, 1-naftil, 2-naftil,



- R¹⁰ se selectează dintre H și CH₃;
- R¹¹ se selectează dintre H sau C₁-C₆ alchil;
- 10 R¹² se selectează dintre H, C₁-C₈ alchil, benzil, C₃-C₆ cicloalchil și -CH₂-C₃-C₆ cicloalchil.

O variantă de realizare a prezentei invenții include un compus cu formula (I) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R¹ reprezintă H și toate alte variabile, inclusiv R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹² și n' au semnificațiile definite mai sus pentru formula (I).

- 15 O altă variantă de realizare a prezentei invenții include un compus cu formula (I) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R² reprezintă H și toate alte variabile, inclusiv R¹, R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹² și n' au semnificațiile definite mai sus pentru formula (I).

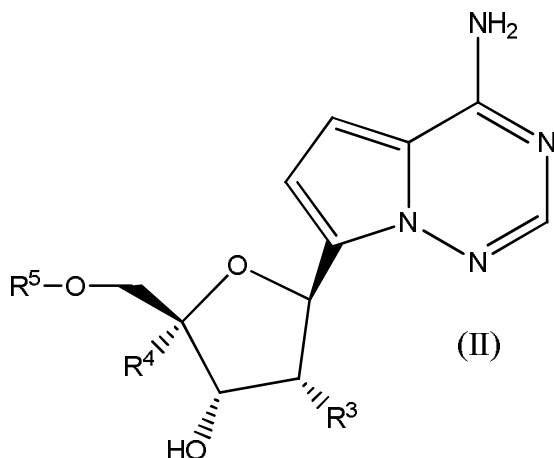
O următoare variantă de realizare a prezentei invenții include un compus cu formula (I) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care ambii R¹ și R² reprezintă H și toate alte variabile, inclusiv R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹² și n' au semnificațiile definite mai sus pentru formula (I).

- 20 Încă o variantă de realizare a prezentei invenții include un compus cu formula (I) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care ambii R¹, R² și R⁵ reprezintă H și toate alte variabile, inclusiv R³, R⁴, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹² și n' au semnificațiile definite mai sus pentru formula (I).

O altă variantă de sine stătătoare de realizare a prezentei invenții include un compus cu formula (I) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care ambii R¹ și R² reprezintă H, R³ reprezintă OH și

- 25 toate alte variabile, inclusiv R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹² și n' au semnificațiile definite mai sus pentru formula (I).
- 30 O altă variantă de sine stătătoare de realizare a prezentei invenții include un compus cu formula (I) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care ambii R¹ și R² reprezintă H, R³ reprezintă F și toate alte variabile, inclusiv R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹² și n' au semnificațiile definite mai sus pentru formula (I).

O altă variantă de realizare a prezentei invenții include un compus cu formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia:

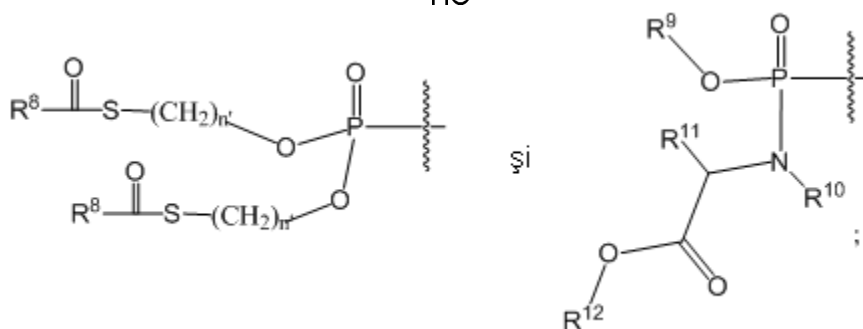
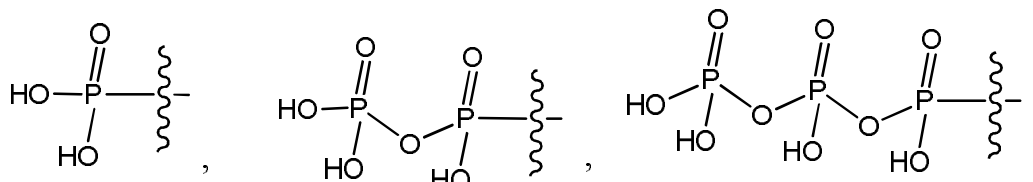


in care:

R³ reprezintă OH sau F;

R⁴ reprezintă CN, C₁-C₄ alchil, C₂-C₄ alchenil, C₂-C₄ alchinil, C₃-C₄ cicloalchil, azido, halogen sau C₁-C₂ haloalchil;

R⁵ se selectează din grupa care include H și:



in care:

n' se selectează dintre 1, 2, 3 și 4;

R⁸ se selectează dintre C₁-C₈ alchil, -O-C₁-C₈ alchil, benzil, -O-benzil, -CH₂-C₃-C₆ cicloalchil, -O-CH₂-C₃-C₆ cicloalchil și CF₃;

R⁹ reprezintă fenil;

R¹⁰ se selectează dintre H și CH₃;

R¹¹ se selectează dintre H sau C₁-C₆ alchil;

R¹² se selectează dintre H, C₁-C₈ alchil, benzil, C₃-C₆ cicloalchil și -CH₂-C₃-C₆ cicloalchil.

Următoarea variantă de realizare a prezentei invenții include compusul cu formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care:

R³ reprezintă OH sau F;

R⁴ reprezintă CN, metil, etil, etenil, etinil, azido, F, Cl, -CH₂Cl, -CH₂F, -CHF₂ sau -CF₃;

și R⁵ și toate alte grupe au semnificațiile definite pentru formula (II).

De asemenea se propune o variantă de realizare a prezentei invenții, care include un compus cu formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, cum se descrie mai sus, în care R³ reprezintă F.

De asemenea se propune o variantă de realizare a prezentei invenții, care include un compus cu formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, cum se descrie mai sus, în care R³ reprezintă OH.

De asemenea se propune o variantă de realizare a prezentei invenții, care include un compus cu formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, cum se descrie mai sus, în care R^3 reprezintă F și R^4 reprezintă CN.

5 De asemenea se propune o variantă de realizare a prezentei invenții, care include un compus cu formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, cum se descrie mai sus, în care R^3 reprezintă OH și R^4 reprezintă CN.

De asemenea se propune o variantă de realizare a prezentei invenții, care include un compus cu formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, cum se descrie mai sus, în care ambii R^1 și R^2 reprezintă H, R^3 reprezintă F și R^4 reprezintă metil, etil, vinil sau etinil.

10 De asemenea se propune o variantă de realizare a prezentei invenții, care include un compus cu formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, cum se descrie mai sus, în care R^3 reprezintă OH și R^4 reprezintă metil, etil, vinil sau etinil.

De asemenea se propune o variantă de realizare a prezentei invenții, care include un compus cu formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, cum se descrie mai sus, în care R^3 reprezintă F și R^4 reprezintă halometil.

15 De asemenea se propune o variantă de realizare a prezentei invenții, care include un compus cu formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, cum se descrie mai sus, în care R^3 reprezintă OH și R^4 reprezintă halometil.

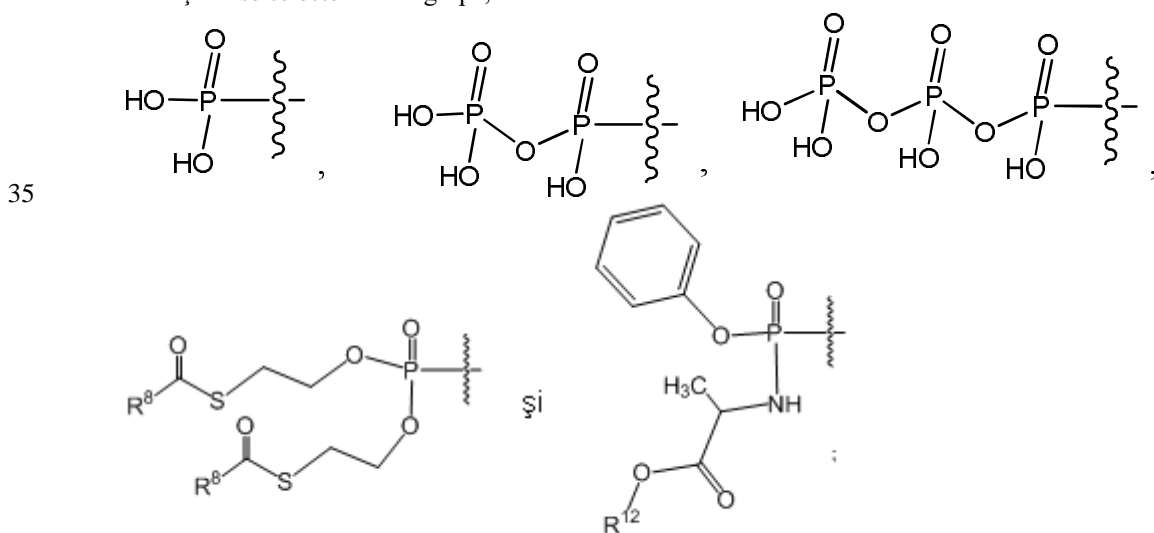
De asemenea se propune o variantă de realizare a prezentei invenții, care include un compus cu formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, cum se descrie mai sus, în care R^5 reprezintă H.

De asemenea se propune o variantă de realizare a prezentei invenții, care include un compus cu formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, cum se descrie mai sus, în care fiecare R^5 reprezintă H, R^3 reprezintă OH și R^4 reprezintă metil, etil, vinil sau etinil.

25 De asemenea se propune o variantă de realizare a prezentei invenții, care include un compus cu formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, cum se descrie mai sus, în care R^5 reprezintă H, R^3 reprezintă F și R^4 reprezintă halometil.

De asemenea se propune o variantă de realizare a prezentei invenții, care include un compus cu formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, cum se descrie mai sus, în care R^5 reprezintă H, R^3 reprezintă OH și R^4 reprezintă halometil.

30 În fiecare din variantele de realizare a prezentei invenții, descrise mai sus, care includ compusul cu formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R^5 poate fi altul, decât H, mai există încă o variantă, în care toate alte variabile au semnificațiile, definite mai sus pentru această variantă de realizare și R^5 se selectează din grupa, care include:



in care:

R^8 se selectează dintre C_1 - C_8 alchil, - O - C_1 - C_8 alchil, benzil și - CH_2 - C_3 - C_6 cicloalchil; și

R^{12} se selectează dintre C_1 - C_8 alchil, benzil, C_3 - C_6 cicloalchil și - CH_2 - C_3 - C_6 cicloalchil.

40 În fiecare din variantele de realizare a prezentei invenții, descrise mai sus, este inclusă încă o variantă, care include un compus cu formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care toate alte variabile au semnificațiile definite mai sus, cu excepția, că R^8 și R^9 fiecare este selectat din C_1 - C_8 alchil. În fiecare din variantele de realizare a invenției, descrise în ultima propoziție, se mai include o

variantă, care conține un compus cu formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care toate alte variabile au semnificațiile, definite mai sus, cu excepția că R^8 și R^9 fiecare este selectat din C_1 - C_6 alchil. În fiecare din variantele de realizare a invenției, descrise în ultima propoziție, se mai include o variantă, care conține un compus cu formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care toate alte variabile au semnificațiile, definite mai sus, cu excepția, că R^8 și R^9 fiecare este selectat din C_1 - C_5 alchil. În fiecare din variantele de realizare a invenției, descrise în ultima propoziție, se mai include o variantă, care conține un compus cu formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care toate alte variabile au semnificațiile, definite mai sus, cu excepția, că R^8 și R^9 fiecare este selectat din C_1 - C_4 alchil.

În fiecare din variantele de realizare a invenției, descrise în prezentul document, care include un compus cu formula (I) sau cu formula (II), mai există o variantă, în care toate variabilele au semnificațiile definite în varianta concretă de realizare, cu o condiție suplimentară că în cazul, în care R^3 reprezintă F, R^4 nu reprezintă metil.

Definiții

Termenii halo și halogen se referă la atomii de halogen, selectați dintre F, Cl, Br și I.

“Azido” se referă la o grupă azidă, adică la grupa $-N_3$. Termenul “n”, așa cum se utilizează în acest context, se referă la un număr întreg, selectat dintre 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 și 20, adică de la 2 până la 20 sau 2-20. În unele cazuri “n” se referă la grupe de numere întregi, cum ar fi de la 1 până la 3, de la 1 până la 4, de la 1 până la 6, de la 1 până la 8, de la 2 până la 4, de la 2 până la 6, de la 2 până la 8, etc.

Termenul “haloalchil”, așa cum se utilizează în prezentul context, se referă la un alchil, având semnificațiile definite în prezentul document, în care unul sau mai mulți atomi de hidrogen, fiecare, este substituit cu un substituent halogen. De exemplu, (C_1-C_6) haloalchil reprezintă (C_1-C_6) alchil, în care unul sau mai mulți atomi de hidrogen sunt substituiți cu un substituent halogen. Un asemenea diapazon include un substituent halogen în grupa alchil până la halogenarea completă a grupei alchil.

Termenul “ (C_{1-n}) haloalchil”, așa cum se utilizează în prezentul context, în care n este un număr întreg, fie separat, sau în combinație cu alt radical, este destinat pentru desemnarea unui radical alchil având 1 până la n atomi de carbon, cum s-a definit anterior, în care unul sau mai mulți atomi de hidrogen, fiecare, este substituit cu un substituent halogen. Exemplele de (C_{1-n}) haloalchil, în care n este 2, includ, dar nu se limitează la aceștia, clormetil, cloretil, dicloretil, brommetil, brometil, dibrometil, fluormetil, difluormetil, trifluormetil, fluoretul și difluoretul.

Termenul “ (C_{1-n}) alchil”, așa cum se utilizează în prezentul context, în care n este un număr întreg, fie separat, sau în combinație cu un alt radical, este destinat să desemneze radicali alchil aciclici cu o catenă liniară sau ramificată, conținând de la 1 până la n atomi de carbon. “ (C_{1-4}) alchil” include, nelimitându-se, metil, etil, propil (*n*-propil), butil (*n*-butil), 1-metiletil (*izo*-propil), 1-metilpropil (*sec*-butil), 2-metilpropil (*izo*-butil) și 1,1-dimetiletul (*terț*-butil sau *t*-butil). Abrevierea Me înseamnă o grupă metil; Et înseamnă o grupă etil, Pr înseamnă o grupă propil, iPr înseamnă o grupă 1-metiletil, Bu înseamnă o grupă butil și tBu înseamnă o grupă 1,1-dimetiletul.

Termenul “alchil” se referă la o hidrocarbură cu conținut de atomi normali, secundari sau terțiari. De exemplu, o grupă alchil poate conține 1 până la 4 atomi de carbon (*adică*, (C_1-C_4) alchil), 1 până la 3 atomi de carbon (*adică*, (C_1-C_3) alchil), sau 1 sau 2 atomi de carbon (*adică*, (C_1-C_2) alchil). Exemplele de grupe de alchil potrivite includ, dar nelimitându-se, metil (Me, $-CH_3$), etil (Et, $-CH_2CH_3$), 1-propil (*n*-Pr, *n*-propil, $-CH_2CH_2CH_3$), 2-propil (*izo*-Pr, *i*-propil, $-CH(CH_3)_2$), 1-butil (*n*-Bu, *n*-butil, $-CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2-metil-1-propil (*izo*-Bu, *izo*-butil, $-CH_2CH(CH_3)_2$), 2-butil (*sec*-Bu, *sec*-butil, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$) și 2-metil-2-propil (*terț*-Bu, *terț*-butil, $-C(CH_3)_3$). “Alchil” se referă, de asemenea, la un radical de hidrocarbură saturată, cu catenă ramificată sau liniară având în radical două centre monovalente, formate prin eliminarea a doi atomi de hidrogen din unul și același sau din doi atomi diferiți de carbon din alcanul inițial. Radicalii tipici de alchil includ, dar nelimitându-se, metilen ($-CH_2-$), 1,1-etil ($-CH(CH_3)-$), 1,2-etil ($-CH_2CH_2-$), 1,1-propil ($-CH(CH_2CH_3)-$), 1,2-propil ($-CH_2CH(CH_3)-$), 1,3-propil ($-CH_2CH_2CH_2-$), 1,4-butil ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$), etc.

“Alchenil” reprezintă o hidrocarbură liniară sau ramificată conținând atomi de carbon normali, secundari sau terțiari cu, cel puțin, un sector de nesaturare, adică carbon-carbon, sp^2 cu legătură dublă. Cu titlu de exemplu, o grupă alchenil poate conține 2 până la 4 atomi de carbon (*adică*, C_2-C_4 alchenil) sau 2 până la 3 atomi de carbon (*adică*, C_2-C_3 alchenil). Exemplele de grupe de alchenil potrivite includ, dar nelimitându-se, etilen sau vinil ($-CH=CH_2$) și alil ($-CH_2CH=CH_2$).

Termenul “ (C_{2-n}) alchenil”, așa cum se utilizează în prezentul context, în care n este un număr întreg, fie separat, sau în combinație cu un alt radical, este destinat pentru desemnarea unui radical aciclic nesaturat cu catenă liniară sau ramificată, conținând doi până la n atomi de carbon, cel puțin doi din care sunt cuplați unul cu altul prin legătură dublă. Exemplele de asemenea radicală includ, dar nelimitându-

se, etenil (vinil), 1-propenil, 2-propenil și 1-butenil. Dacă nu se specific altceva, termenul “(C_{2-n})alchenil” se subînțelege ca cuprinzând unii stereozomeri aparte, când posibil, include, dar nu se limitează cu aceștia, izomerii (*E*) și (*Z*) și amestecurile acestora. Când grupa (C_{2-n})alchenil este substituită, se subînțelege, că este substituită la orice atom de carbon, care în alt caz este legat cu atomul de hidrogen, dacă nu se specifică altceva, și este substituită astfel, încât substituirea să conducă la un compus chimic stabil, cum aceasta înțeleg specialiștii în acest domeniu al tehnicii.

“Alchinel” reprezintă o hidrocarbură liniară sau ramificată, conținând atomi normali, secundari sau terțiari de carbon cu cel puțin un sector de nesaturare, adică carbon-carbon, *sp* cu legătură triplă. De exemplu, o grupă alchinel poate conține 2 până la 4 atomi de carbon (*adică*, C₂-C₄ alchinel) sau 2 până la 3 atomi de carbon (*adică*, C₂-C₃ alchine). Exemplele de grupe alchinel potrivite includ, dar, nelimitându-se, acetilen (-C≡CH), propargil (-CH₂C≡CH), etc.

Termenul “(C_{2-n})alchinel”, așa cum se utilizează în prezentul context, în care *n* este un număr întreg, fie separat, sau în combinație cu un alt radical, este destinat pentru a desemna un radical aciclic nesaturat cu catenă liniară sau ramificată, conținând doi până la *n* atomi de carbon, cel puțin doi din care sunt cuplați unul cu altul cu o legătură triplă. Exemplele de asemenea radical, în care *n* este 4 includ, dar nelimitându-se, etinil, 1-propinil, 2-propinil și 1-butenil. Când grupa (C_{2-n})alchinel este substituită, se subînțelege, că ea este substituită la oricare atom de carbon al său, care în alt caz este legat cu atomul de hidrogen, dacă nu se specifică altceva, și este substituită astfel, încât substituirea să conducă la un compus chimic stabil, de exemplu cum aceasta înțeleg specialiștii în acest domeniu al tehnicii.

Termenul cicloalchil se referă la o grupă alifatică ciclică. Grupele cicloalchil în prezentul context pot fi însoțite de indicarea numărului de atomi de carbon în inelul lor, cum ar fi “C₃-C₄ cicloalchil”, care se referă la un inel cicloalchil cu 3 sau 4 atomi de carbon în inel sau “C₃-C₆ cicloalchil”, indicând că inelul cicloalchil conține 3, 4, 5 sau 6 atomi de carbon în inel, adică un inel ciclopropil, ciclobutil, ciclopropil sau ciclohexil.

Termenul “carbociclu” sau “carbocicli” se referă la un ciclu saturat (*adică*, cicloalchil) sau parțial nesaturat (de exemplu, cicloalchenil, cicloalcadienil, etc.), conținând numărul de atomi de carbon specificat, cum ar fi 3 până la 4 atomi de carbon sau 3 până la 6 atomi de carbon în calitate de sistem inelar monociclic. Într-o variantă de realizare carbociclu reprezintă un monociclu conținând 3-6 atomi de carbon în inel (*adică*, (C₃-C₆)carbociclu). Exemplele nelimitative de carbocicluri monociclice includ inele ciclopropil, ciclobutil, ciclopropil, 1-ciclopropil-1-enil, 1-ciclopropil-2-enil, 1-ciclopropil-3-enil, ciclohexil, 1-ciclohex-1-enil, 1-ciclohex-2-enil, 1-ciclohex-3-enil și ciclohexa-1,3-dienil.

Fiecare grupă carbocicli poate fi substituită cu 0, 1, 2 sau 3 substituenți independenți selectați dintre halogen, -OH, -CN, -NO₂, -NH₂, -NH(C₁-C₆ alchil), -N(C₁-C₆ alchil)₂, C₁-C₆ alchil, C₁-C₆ alcoxi și -CF₃.

35 Compoziții farmaceutice

Se prevede, de asemenea, o compoziție farmaceutică, care conține o cantitate farmaceutic eficientă de un compus cu formula (I) sau de o sare, solvat și/sau de ester farmaceutic acceptabil al acestuia și un purtător sau excipient farmaceutic acceptabil. Sunt prevăzute, de asemenea, compoziții farmaceutice, fiecare conținând o cantitate farmaceutic eficientă de un compus cu formula (II) sau de unul din compușii specificați în exemplele, prezentate în acest document sau o sare, solvate și/sau un ester al acestuia farmaceutic acceptabil și un purtător sau un excipient farmaceutic acceptabil.

Compușii, conform prezentei invenții, în procesul de obținere a formei medicamentoase se combină cu purtători sau excipienți uzuali, care se selectează în conformitate cu practica obișnuită. Tabletele pot conține excipienți, glisanți, umpluturi, lianți, etc. Formulările apoase se prepară în formă sterilă și în cazul, în care sunt destinate pentru o altă administrare, decât orală, în general sunt izotonice.

Toate formulările conțin opțional excipienți, cum ar fi cei prezentați în "Handbook of Pharmaceutical Excipients" (1986). Excipienții includ acid ascorbic și alți antioxidanți, agenți de chelare, cum ar fi EDTA, carbohidrați, cum ar fi dextran, hidroxialchilceluloză, hidroxialchilmetilceluloză, acid stearic acid, etc. pH compozițiilor se menține în limite de la circa 3 până la circa 11, dar de obicei constituie circa 7 până la 10.

Cu toate că este posibilă administrarea separată a ingredientelor active, poate fi preferată administrarea lor sub formă de compoziții farmaceutice. Compozițiile, atât pentru uz veterinar, cât și pentru uz uman, conțin cel puțin un ingredient activ, definit mai sus, împreună cu unul sau mai mulți purtători potriviți și opțional cu alte ingrediente terapeutice, în particular cu așa ingrediente terapeutice adiționale, cum ar fi cele examinate în prezentul context. Purtătorul (purtătorii) trebuie să fie "acceptabil (acceptabili)" în sensul compatibilității cu alte ingrediente din compoziție și fiziologic inofensiv pentru recipient.

Compozițiile includ acele compoziții, care sunt potrivite pentru căile menționate de administrare. Compozițiile pot fi prezente în formă medicamentoasă standard și pot fi preparate prin oricare din

metodele bine cunoscute în domeniul farmaciei (Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, PA). Asemenea metode includ etapa de introducere în asociere a ingredientului activ cu purtătorul, care constă din unul sau câteva ingrediente auxiliare. În general compozițiile se prepară prin amestecarea uniformă și minuțioasă a ingredientului activ cu purtători lichizi sau cu purtători solizi fin mărunțiți sau cu ambii, iar apoi, dacă este necesar, formularea produsului.

Compozițiile, potrivite pentru administrare orală, pot fi prezente sub formă de unități discrete, cum ar fi capsule, pliculețe sau tablete, fiecare dintre ele conținând o cantitate predeterminată de ingredient activ; pulbere sau granule; sub formă de soluție sau suspensie în lichid apos sau neapos; sau sub formă de emulsie lichidă ulei-in-apă sau emulsie lichidă apă-in-ulei. Ingredientul activ poate fi, de asemenea, administrat sub formă de bolus, excipient sau pastă.

Tableta se prepară prin presare sau prin turnare opțional cu unul sau mai multe ingrediente auxiliare. Tabletele presate pot fi preparate prin presarea într-un dispozitiv potrivit a ingredientului activ în formă fluidă liberă, cum ar fi sub formă de pulbere sau granule, opțional amestecat cu un liant, lubrefiant, un diluant inert, un conservant, un agent activ de suprafață sau un agent de dispersare. Tabletele turnate pot fi preparate prin turnarea într-un dispozitiv potrivit a unui amestec de ingredient activ pulverulent, umectat cu un diluant lichid inert. Tabletele pot fi opțional acoperite sau pe ele pot fi aplicate scarificații și, opțional, sunt formulate pentru a asigura o eliberare lentă sau controlată din ele a ingredientului activ.

Pentru infecțiile oculare sau ale altor țesuturi externe, de exemplu, bucale sau ale pielii, compozițiile, de preferință, se aplică sub formă de liniment sau creme externe cu conținut de ingredient(e) activ(e) în cantitate, de exemplu, de 0,075 până la 20% mas/mas (inclusiv ingredient(e) activ(e) în limite între 0,1% și 20% cu creștere cu 0,1% mas/mas, cum ar fi 0,6% mas/mas, 0,7% mas/mas, etc.), de preferință 0,2 până la 15% mas/mas și mai potrivită fiind de 0,5 până la 10% mas/mas. În cazul formulării sub formă de liniment, ingredientele active pot fi utilizate fie cu o bază de liniment parafinică, sau cu una miscibilă cu apă. Alternativ, ingredientele active pot fi formulate în cremă cu o bază de cremă de tip ulei-in-apă.

Dacă este dezirabil, faza apoasă a bazei de cremă poate include, de exemplu, cel puțin 30% mas/mas de alcool polihidric, de exemplu un alcool cu conținut de două sau mai multe grupe hidroxile, cum ar fi propilenglicol, butan 1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol și polietilenglicol (inclusiv PEG 400) și amestecuri ale acestora. Formulările topice pot, dacă este dezirabil, include un compus care amplifică absorbția sau permeabilitatea ingredientului activ prin piele sau alte sectoare afectate. Exemplele de asemenea amplificatori ai penetrației dermale includ dimetil sulfoxid și analogi înrudiți.

Faza uleioasă a emulsiilor poate fi constituită din ingrediente cunoscute printr-o metodă cunoscută. Cu toate că faza poate conține doar emulsificator (altfel cunoscut ca emulgent), este dezirabil ca ea să conțină un amestec, cel puțin, de un emulsificator cu o grăsime sau un ulei, sau cu ambele și cu grăsime, și cu ulei. Este preferată includerea emulsificatorului hidrofilic împreună cu emulsificatorul lipofilic, care acționează în calitate de stabilizator. De asemenea este preferată includerea atât a grăsimii, cât și a uleiului. Împreună emulsificatorul (emulsificatorii) cu stabilizatorul (stabilizatorii) sau fără acesta (aceștia) formează așa-numita ceară emulsifiantă, iar ceara împreună cu uleiul și grăsimea formează așa-numita bază de liniment emulsifiantă, care formează faza dispersată uleioasă a compozițiilor de cremă.

Emulgenți și stabilizatorii de emulsie, potriviți pentru utilizare în compoziție, includ Tween[®] 60, Span[®] 80, alcool cetostearilic, alcool benzilic, alcool miristic, gliceril mono-stearat și lauril sulfat de sodiu.

Selectarea uleiurilor și grăsimilor potrivite pentru formulare se bazează pe scopul realizării unor proprietăți cosmetice dezirabile. Crema, de preferință, nu trebuie să fie un produs gras, să lase pete, să fie lavabilă și cu o consistență potrivită, pentru a evita curgerea din tuburi sau alte containere. Pot fi utilizați esteri alchil mono- sau dibazici cu catenă liniară sau ramificată, cum ar fi di-izoadipat, izocetil stearat, diester al acizilor grași ai uleiului de cocos și propilenglicol, izopropilmiristat, deciloleat, izopropil palmitat, butilstearat, 2-etilhexilpalmitat sau amestec de esteri cu catenă ramificată, cunoscuți ca Crodamol CAP, ultimii trei fiind esteri preferați. Ei pot fi folosiți separat sau în combinație, în funcție de proprietățile necesare. În calitate de alternativă se folosesc lipide cu temperatură înaltă de topire, cum ar fi parafina moale albă și/sau parafina lichidă sau alte uleiuri minerale.

Compozițiile farmaceutice, conform prezentei invenții, conțin o combinație cu unul sau câțiva purtători sau excipienți farmaceutic acceptabili și opțional alți agenți terapeutici. Compozițiile farmaceutice cu conținut de ingredient activ pot fi în oarecare formă potrivită pentru metoda de administrare prevăzută. La utilizare pentru administrare orală pot fi preparate, de exemplu, tablete, comprimate, pastile, suspensii apoase sau uleioase, pulberi dispersabile sau granule, emulsii, capsule moi sau tari, soluții, siropuri sau elixire. Compozițiile pentru administrare orală pot fi preparate prin orice metodă, cunoscută în acest domeniu de producere al compozițiilor farmaceutice și aceste

compoziții pot conține unul sau câțiva agenți, inclusiv îndulcitori, aromatizanți, coloranți și conservanți, pentru prepararea unui preparat cu aromă și gust plăcut. Sunt potrivite tabletele cu conținut de ingredient activ în amestec cu o umplutură netoxică farmaceutic acceptabilă, care se potrivește pentru prepararea tabletelor. Asemenea umpluturi pot fi, de exemplu, diluanții inerti, cum ar fi carbonatul de calciu sau de sodiu, lactoza, fosfatul de calciu sau de sodiu; agenții de granulare și de dezintegrare, cum ar fi amidonul de porumb sau acidul alginic; lianții, cum ar fi amidonul, gelatina sau acacia și lubrifiantii, cum ar fi stearatul de magneziu, acidul stearic sau talcul. Tabletele pot fi fără înveliș sau pot fi acoperite prin metode cunoscute, incluzând microincapsularea pentru reținerea dezintegrării și adsorbției în tractul gastro-intestinal, astfel, asigurând efectul pentru o perioadă îndelungată de timp. De exemplu, poate fi utilizat un așa material pentru reținere, cum ar fi glicerilmonostearat sau glicerildistearat de unul singur sau cu ceară.

Compozițiile pentru administrare orală pot fi prezente, de asemenea, în capsule solide de gelatină, în care ingredientul activ este amestecat cu un diluant solid inert, de exemplu, cu fosfat de calciu sau caolină, sau sub formă de capsule moi de gelatină, în care ingredientul activ este amestecat cu apă sau cu un mediu uleios, cum ar fi uleiul de arahide, parafina lichidă sau uleiul de măsline.

Suspensiile apoase conțin substanțe active în amestec cu excipienți, potriviți pentru prepararea suspensiilor apoase. Asemenea excipienți includ un agent de suspendare, cum ar fi sodiu carboximetilceluloză, metilceluloză, hidroxipropil metilceluloză, alginat de sodiu, polivinilpirolidonă, gumă de tragacant și gumă acacia, și agenți de dispersare sau de umectare, cum ar fi fosfatide naturale (de exemplu, lecitină), un produs de condensare a oxidului de alchilen cu un acid gras (de exemplu, polioxietilenstearat), un produs de condensare a oxidului de etilenă cu un alcool alifatic cu catenă lungă (de exemplu, heptadecaetilenoxicetanol), un produs de condensare a oxidului de etilenă cu un ester parțial derivat dintr-un acid gras și anhidrida hexitolului (de exemplu, polioxietilen sorbitan monooleat). Suspensia apoasă poate conține, de asemenea, unul sau câțiva conservanți, cum ar fi etil sau n-propil p-hidroxi-benzoat, unul sau câțiva coloranți, unul sau câțiva agenți de aromatizare și unul sau câțiva îndulcitori, cum ar fi zaharoză sau zaharină.

Suspensiile de ulei pot fi preparate prin suspendarea ingredientului activ în ulei vegetal, cum ar fi uleiul de arahide, uleiul de măsline, uleiul de susan sau uleiul de cocos, sau în ulei mineral, cum ar fi parafina lichidă. Suspensiile de ulei pot conține un aglutinant, cum ar fi ceara de albine, parafina solidă sau acidul cetilic. Pentru conferirea gustului în preparatul pentru administrare orală pot fi adăugați îndulcitori, cum ar fi cei menționați anterior, și aromatizanți. Aceste compoziții pot fi stabilizate prin adăugarea unui antioxidant, cum ar fi acidul ascorbic.

Pulberile și granulele dispersabile, potrivite pentru prepararea suspensiilor apoase prin adăugarea apei, prevăd ingredientul activ în amestec cu un agent de dispersare sau de umectare, un agent de suspendare și unul sau câțiva conservanți. Agenții de dispersare sau de umectare și agenții de suspendare sunt exemplificați prin cei descriși mai sus. De asemenea, pot fi prezenți excipienți adiționali, de exemplu, îndulcitori, substanțe aromate și coloranți.

Compozițiile farmaceutice pot fi, de asemenea, sub formă de emulsii ulei-in-apă. Faza uleioasă poate reprezenta un ulei vegetal, cum ar fi ulei de măsline sau ulei de arahide, ulei mineral, cum ar fi parafină lichidă sau un amestec de aceștia. Agenții de emulsifiere potriviți includ gume naturale, cum ar fi gumă acacia și gumă de tragacant, fosfatide naturale, cum ar fi lecitină de soia, esteri sau esteri parțiali derivați din acizi grași și anhidride de hexitol, cum ar fi sorbitan monooleat și produse de condensare ale acestor esteri parțiali cu oxid de etilenă, cum ar fi polioxietilen sorbitan monooleat. Emulsia mai poate conține agenți de îndulcire și aromatizanți. Siropurile și elixirele pot fi formulate cu îndulcitori, cum ar fi glicerol, sorbitol sau zaharoză. Asemenea formulări pot conține, de asemenea, un demulcent, un conservant, un agent de aromatizare sau de colorare.

Compozițiile farmaceutice pot fi sub formă de preparate injectabile sau intravenoase sterile, cum ar fi suspensia apoasă sau oleaginoasă injectabilă. Această suspensie poate fi preparată, în conformitate cu metodele din stadiul anterior, folosind agenți potriviți de dispersare sau de umectare și agenții de suspendare menționați anterior. Preparatul injectabil sau intravenos steril poate fi, de asemenea, o soluție sau o suspensie injectabilă sterilă într-un diluant sau un solvent netoxic parenteral acceptabil, cum ar fi soluție în 1,3-butan-diol, sau este preparată ca o pulbere liofilizată. Printre purtătorii și solvenții potriviți, care pot fi utilizați, poate fi menționată apa, soluția Ringer și soluția izotonică de clorură de sodiu. În plus, în calitate de solvent sau de mediu de suspendare pot fi utilizate uleiuri sterile nevolatile. În acest scop poate fi utilizat orice ulei nevolatil, inclusiv mono- sau digliceride. În plus, în prepararea preparatelor injectabile pot fi folosiți acizii grași, cum ar fi acidul oleic.

Cantitatea de ingredient activ, care poate fi combinată cu materialul purtător pentru a produce o singură doză, va varia în funcție de gazda tratată și de modul particular de administrare. De exemplu, o formulare cu eliberare în timp, destinată administrării orale la oameni, poate conține aproximativ 1 până

la 1000 mg de material active de compus cu o cantitate corespunzătoare și potrivită de material purtător, care poate varia de la circa 5 până la circa 95% din totalul compoziției (mas:mas). Compoziția farmaceutică poate fi preparată pentru a furniza cantități ușor măsurabile pentru administrare. De exemplu, o soluție apoasă pentru perfuzie intravenoasă poate conține de la aproximativ 3 până la 500 μg de ingredient activ per mililitru de soluție pentru a asigura infuzia unui volum adecvat cu o rată de aproximativ 30 ml/h.

Compozițiile potrivite pentru administrare topică în ochi includ, de asemenea, picături pentru ochi în care ingredientul activ este dizolvat sau suspendat într-un purtător potrivit, în special un solvent apos pentru ingredientul activ. Ingredientul activ este, de preferință, prezent în astfel de compoziții într-o concentrație de 0,5 până la 20%, în mod avantajos 0,5 până la 10% și în particular de aproximativ 1,5% mas/mas.

Compozițiile potrivite pentru administrare topică în cavitatea bucală includ tablete conținând ingredientul activ într-o bază aromatizată, de obicei zaharoză și acacia sau tragacant; pastile cuprinzând ingredientul activ într-o bază inertă, cum ar fi gelatină și glicerină sau zaharoza și acacia; și ape de gură conținând ingredientul activ într-un purtător lichid adecvat.

Compozițiile pentru administrare rectală pot fi prezentate sub formă de supozitor cu o bază adecvată care conține, de exemplu, unt de cacao sau salicilat.

Compozițiile potrivite pentru administrare intrapulmonară sau nazală au o dimensiune a particulei, de exemplu, în intervalul de la 0,1 până la 500 micrometri, cum ar fi 0,5, 1, 30, 35 etc., care se administrează prin inhalare rapidă prin pasaj nazal sau prin inhalare prin gură, astfel încât să se ajungă la sacii alveolari. Compozițiile potrivite includ soluții apoase sau uleioase de ingredient activ. Compozițiile potrivite pentru aerosol sau administrarea pulberii uscate pot fi preparate prin metode uzuale și pot fi livrate împreună cu alți agenți terapeutici, cum ar fi compușii utilizați până acum în profilaxia sau tratamentul infecțiilor *Pneumovirinae*, așa cum este descris în continuare.

Alte variante de realizare a invenției se referă la o compoziție inhalatoare nouă, eficientă, inofensivă, neiritantă și compatibilă fiziologic, care conține compusul cu formula (I) sau formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestora, potrivită pentru tratamentul infecțiilor *Pneumovirinae* și posibil a bronșiolitei asociate. Sărurile farmaceutic acceptabile preferate sunt sărurile de acizi anorganici, inclusiv sărurile de hidrociorură, hidrobromură, sulfat sau fosfat, deoarece ele pot cauza iritații pulmonare mai mici. De preferință, preparatul inhalator pătrunde în spațiul endobronșic sub formă de aerosol, conținând particule cu diametrul aerodinamic mas median (MMAD) în limite de la circa 1 până la circa 5 μm. De preferință, compusul cu formula (I) sau cu formula (II) se introduce în compoziție pentru livrarea în aerosol utilizând un nebulizer, un inhalator dozator sub presiune (pMDI) sau un inhalator de pulbere uscată (DPI).

Exemplele nelimitative de nebulizatoare includ nebulizatoare cu atomizare, cu jet, cu ultrasunete, sub presiune, cu placă vibratoare poroasă sau echivalente, incluzând acele nebulizatoare care utilizează tehnologia adaptivă de livrare a aerosolului (Denyer, J. Aerosol medicine Pulmonary Drug Delivery 2010, 23 Supp. 1, S1-S10). În nebulizatorul cu jet se utilizează presiunea aerului pentru a transforma soluția lichidă în picături de aerosol. Un nebulizator cu ultrasunete funcționează cu ajutorul unui cristal piezoelectric, care mărunțește lichidul în picături mici de aerosol. Într-un sistem compresor de nebulizer soluția sub presiune trece prin pori mici pentru a genera picături de aerosol. În dispozitivul cu placă vibratoare poroasă se utilizează vibrația rapidă pentru transformarea fluxului de lichid până la picături de dimensiuni potrivite.

Intr-o variantă preferată compoziția pentru inhalare este livrată în spațiul endobronșic în aerosol conținând particule cu MMAD predominant între aproximativ 1 μm și circa 5 μm folosind un nebulizator capabil să aerosolizeze compoziția de compus cu formula (I) sau formula (II) în particule de MMAD necesar. Pentru a fi optimal eficient terapeutic și pentru a evita efectele secundare respiratorii în căile respiratorii superioare și sistemice, majoritatea particulelor aerosolizate nu ar trebui să aibă un MMAD mai mare de aproximativ 5 μm. Dacă un aerosol conține un număr mare de particule cu un MMAD mai mare de 5 μm, particulele sunt depozitate în căile superioare respiratorii, micșorând cantitatea de medicament eliberat la locul inflamației și bronhoconstricției în căile respiratorii inferioare. Dacă MMAD aerosolului este mai mic de circa 1 μm, atunci particulele au tendința de a rămâne suspendate în aerul inhalat și ulterior sunt expirate în timpul expirației.

La prepararea și livrarea compoziției farmaceutice prin metoda, conform prezentei invenții, compoziția de aerosol pentru inhalare asigură doza eficientă de compus cu formula (I) sau formula (II) în sectorul cu infecție *Pneumovirinae*, suficientă pentru tratamentul infecției *Pneumovirinae*. Cantitatea de medicament administrată trebuie ajustată din considerentele eficienței livrării dozei terapeutice eficiente de compus cu formula (I) sau formula (II). Intr-o variantă preferată de realizare a prezentei invenții combinația de compoziție apoasă de aerosol cu un nebulizer cu atomizare, cu jet, cu compresor,

cu placă vibratoare poroasă sau cu ultrasunet permite de a asigura livrarea în căile respiratorii, în funcție de nebulizer, circa, cel puțin, 20 până la circa 90%, de regulă circa 70% din doza administrată de compus cu formula (I) sau formula (II). Intr-o variantă preferată de realizare se livrează, cel puțin, de la aproximativ 30 până la aproximativ 50% de compus activ. Mai preferată fiind livrarea de la circa 70 până la circa 90% de compus activ.

Intr-o altă variantă de realizare compusul cu formula (I) sau formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia este livrat ca o pulbere uscată inhalabilă. Compușii se administrează endobronșic sub formă de preparat de pulbere uscată pentru a livra eficient particule fine de compus în spațiul endobronșic folosind pulbere uscată sau inhalator dozator. Pentru livrarea cu IPU compusul cu formula (I) sau formula (II) este transformat în particule, preponderent, cu MMAD între aproximativ 1 μm și circa 5 μm prin măcinare și uscare prin pulverizare, tratare în lichid critic sau precipitare din soluție. Dispozitivele și metodele de atomizare în mediu cu o moară cu jet și uscare prin pulverizare, care permit de a produce dimensiunile particulelor cu MMAD de la aproximativ 1 μm până la circa 5 μm sunt bine cunoscute în domeniu. Intr-o variantă de realizare a prezentei invenții înainte de transformarea până la particule de dimensiuni cerute la compusul cu formula (I) sau formula (II) se adaugă excipienți. Intr-o altă variantă de realizare a prezentei invenții excipienții se amestecă cu particule de mărimea necesară pentru a contribui la dispersia particulelor de medicament, de exemplu, utilizând lactoza ca excipient.

Determinarea dimensiunii particulelor este realizată folosind dispozitive bine cunoscute în domeniu. De exemplu, separatorul în cascadă în mai multe etape Anderson sau o altă metodă potrivită, care concret sunt menționate în Farmacopeea SUA Capitolul 601 ca dispozitive caracteristice pentru aerosoli în inhalatoare dozatoare și inhalatoare cu pulbere uscată.

Intr-o altă variantă preferată de realizare a prezentei invenții compusul cu formula (I) sau formula (II) se livrează în formă de pulbere uscată utilizând așa dispozitive, cu ar fi inhalator cu pulbere uscată sau alte dispozitive cunoscute din literatura de specialitate (US 5458135 A 1995.10.17; US 5740794 A 1998.04.21; US 5775320 A 1998.07.07; US 5785049 A 1998.07.28; US 3906950 A 1975.09.23; US 4013075 A 1977.03.22; US 4069819 A 1978.01.24; US 4995385 A 1991.02.26; US 5522385 A 1996.06.04; US 4668218 A 1987.05.26; US 4667668 A 1987.05.26; US 4805811 A 1989.02.21; US 5388572 A 1995.02.14). Există două modele principale de inhalatoare cu pulbere uscată. Una din construcții reprezintă un dispozitiv de dozare, în care rezervorul pentru medicament este plasat în interiorul dispozitivului și pacientul adaugă doza de medicament în camera de inhalare. Cea de a doua construcție reprezintă un dispozitiv de dozare de fabrică, în care fiecare doză individuală este plasată într-un recipient separat. Ambele sisteme depind de compoziția preparatului în particule mici cu MMAD de la 1 μm și 5 μm și deseori includ prepararea medicamentului împreună cu particule de excipient mai mari, cum ar fi, dar fără a se limita la acestea, lactoză. Pulberea de medicament este plasată în camera de inhalare (fie cu dispozitivul de dozare, sau prin separarea dozei de fabrică măsurate) și inspirația pacientului accelerează ieșirea pulberii din dispozitiv în cavitatea bucală. Caracteristicile fluxului nelaminar ale căii pulberii cauzează descompunerea agregatelor excipient-medicaament și masa particulelor mari de excipient determină reținerea lor pe partea posterioară a faringelui, în timp ce particulele mai mici de medicament sunt depozitate adânc în plămâni. În variantele preferate de realizare a prezentei invenții compusul cu formula (I) sau formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia este livrat sub formă de pulbere uscată, folosind oricare tip de inhalator cu pulbere uscată, cum este descris aici, când MMAD pulberii uscate, cu excepția excipienților, constituie predominant în intervalul de la 1 μm până la circa 5 μm.

Intr-o altă variantă de realizare a prezentei invenții compusul cu formula (I) sau formula (II) se livrează sub formă de pulbere uscată utilizând un inhalator dozator cunoscut (US 5261538 A 1993.11.16; US 5544647 A 1996.08.13; US 5622163 A 1997.04.22; US 4955371 A 1990.09.11; US 3565070 A 1971.02.23; US 3361306 A 1968.01.02; US 6116234 A 2000.09.12). În variantele preferate de realizare a prezentei invenții compusul cu formula (I) sau formula (II) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia se livrează sub formă de pulbere uscată cu utilizarea unui inhalator dozator, în care MMAD pulberii uscate, cu excepția excipienților, constituie preponderent circa 1...5 μm.

Compozițiile potrivite pentru administrare vaginală pot fi prezentate sub formă de pesarii, tamponane, creme, geluri, paste, spume sau aerosoli, care conțin adițional la ingredientul activ așa purtători, care sunt cunoscuți în domeniu de a fi potriviți pentru aceste scopuri.

Compozițiile potrivite pentru administrare parenterală includ soluții apoase și neapoase sterile injectabile, care pot conține antioxidanți, tamponane, agenți bacteriostatici și substanțe dizolvate, care fac compoziția izotonică în raport cu sângele recipientului; și suspensii apoase și neapoase sterile, care pot include agenți de suspendare și agenți de îngroșare.

Compozițiile sunt prezentate în containere cu o singură doză sau cu doze multiple, de exemplu, în

fiole și flacoane sigilate și pot fi depozitate în stare uscată prin congelare (liofilizate), care necesită doar adăugarea unui purtător lichid steril, de exemplu, a apei pentru injecții, imediat înainte de utilizare. Suspensiile și soluțiile injectabile extemporanee sunt preparate din pulberi, granule și tablete sterile de tipul celor descrise anterior. Sunt preferate formulările dozate standard, care conțin o doză zilnică sau o doză unitară din doza zilnică, așa cum s-a menționat mai sus, sau o parte corespunzătoare din aceasta de ingredient activ.

Trebuie de avut în vedere că, adițional la ingredientele, în particular, menționate mai sus, compozițiile pot include și alți agenți, utilizați de obicei în domeniu, având în vedere tipul de compoziție examinat, de exemplu, compozițiile potrivite pentru administrare orală pot include agenți de aromatizare.

În plus sunt propuse compoziții veterinare cu conținut de cel puțin un ingredient activ, așa cum este definit mai sus, împreună cu un purtător veterinar potrivit.

Purtătorii veterinari potriviți reprezintă substanțe, utilizate în scopul administrării compoziției, și ei pot fi solizi, lichizi sau materiale gazoase, care pe de o parte sunt inerte e, pe de altă parte sunt acceptabili în veterinărie și compatibili cu ingredientul activ. Aceste compoziții veterinare pot fi administrate oral, parenteral sau prin orice altă cale dezirabilă.

Compușii, menționați în prezentul context, sunt utilizați pentru a asigura eliberarea controlată a medicamentului cu conținut în calitate de ingredient activ a unui sau a câțiva compuși ("compoziții cu eliberare controlată"), în care eliberarea ingredientului activ este controlată și reglementată, ceea ce permite reducerea frecvenței administrărilor sau îmbunătățirea farmacocineticii sau profilului de toxicitate al acestui ingredient activ.

Doza eficientă de ingredient activ depinde, cel puțin, de originea afecțiunii, care urmează a fi tratată, de toxicitate, de faptul dacă compusul este utilizat pentru profilaxie (doze mai mici) sau împotriva unei infecții virale active, de metoda de livrare, precum și de compoziția farmaceutică, și va fi determinată de clinician cu utilizarea studiilor obișnuite de stabilire a dozei. Se poate aștepta, ca ea să constituie de la aproximativ 0,0001 până la aproximativ 100 mg/kg greutate corporală pe zi; de regulă, de la aproximativ 0,01 până la aproximativ 10 mg/kg greutate corporală pe zi; mai tipic, de la aproximativ 0,01 până la aproximativ 5 mg/kg greutate corporală pe zi; cel mai tipic, de la aproximativ 0,05 până la aproximativ 0,5 mg/kg greutate corporală pe zi. De exemplu, doza zilnică presupusă pentru o persoană adultă cu greutatea corporală de aproximativ 70 kg va varia de la 1 mg până la 1000 mg, de preferință între 5 mg și 500 mg și poate fi în formă de doză unică sau de doze multiple.

Căile de administrare

Unul sau câțiva compuși (denumiți în continuare ingrediente active) sunt administrați pe orice cale potrivită pentru starea, care urmează a fi tratată. Căile potrivite includ administrare orală, rectală, nazală, pulmonară, topică (inclusiv bucală și sublinguală), vaginală și parenterală (inclusiv subcutanată, intramusculară, intravenoasă, intradermică, intratecală și epidurală), etc. Trebuie de avut în vedere, că calea preferată poate varia în funcție, de exemplu, de starea recipientului. Un avantaj al compușilor din prezentul document este biodisponibilitatea lor orală și ei pot fi administrați oral.

Terapia combinată

Compozițiile se utilizează, de asemenea, în combinație cu alte ingrediente active. Pentru tratamentul infecțiilor cu virusul Pneumovirinae, de preferință, celălalt agent terapeutic activ este activ împotriva infecțiilor cu virusul Pneumovirinae, în particular, infecției virale sincitiale respiratorii. Exemple nelimitative de astfel de alți agenți terapeutici activi sunt: ribavirina, palivizumab, motavizumab, RSV-IGIV (RespiGam®), MEDI-557, A-60444 (de asemenea, cunoscut sub denumirea de RSV604), MDT-637, BSM-433771, ALN-RSV0, ALX-0171 și amestecuri ale acestora.

Multe dintre infecțiile cu virusuri Pneumovirinae sunt infecții respiratorii. Astfel, agenții terapeutici activi suplimentari, utilizați pentru tratamentul simptomelor respiratorii și sechelelor după infecție, pot fi utilizați în combinație cu compușii cu formula (I) sau formula (II). Agenții suplimentari se administrează de preferință pe cale orală sau prin inhalare directă. De exemplu, alți agenți terapeutici suplimentari preferați în combinație cu compușii cu formula (I) sau formula (II) pentru tratamentul infecțiilor virale ale căilor respiratorii includ, dar nefiind limitați de aceștia, bronhodilatatoare și corticosteroizi.

Glucocorticoizii, care pentru prima dată au fost utilizați în calitate de agenți terapeutici în astm în anul 1950 (Carrier. Journal of Allergy, 21, 1950, p. 282-287), persistă stabil cel mai puternic și eficient tratament al acestei patologii, cu toate că mecanismul lor de acțiune nu este încă pe deplin studiat (Morris J. Allergy Clin. Immunol., 75 (1 Pt), 1985, p. 1-13). Spre regret, terapiile cu glucocorticoizi orali se asociază cu efecte secundare indezirabile semnificative, cum ar fi obezitatea trunculară, hipertensiune, glaucom, intoleranță la glucoză, accelerarea formării cataractei, pierderea țesutului osos, precum și efecte psihologice, toate ele limitând utilizarea lor ca agenți terapeutici pe termen lung

(Goodman, Gilman, 10th edition, 2001). O soluție pentru evitarea efectelor secundare sistemice este livrarea medicamentelor cu steroizi direct la locul inflamației. Corticosteroizii inhalatori (ICS) au fost elaborați pentru a atenua efectele adverse severe ale steroizilor orali. Exemple nelimitative de corticosteroizi, care pot fi utilizați în combinație cu compușii cu formula (I) sau formula (II) sunt:

5 dexametazonă, dexametazonă fosfat de sodiu, fluormetolon, acetat de fluormetolon, loteprednol, loteprednol etabonat, hidrocortizon, prednisolon, fludrocortizoni, triamcinolon, triamcinolon acetamid, betametazonă, beclometazonă dipropionat, metilprednizolon, fluocinolon, fluocinolon acetamid, flunizolid, fluocortin-21-butilat, flumetazon, flumetazon pivalat, budesonid, halobetazol propionat, mometazonă furoat, fluticazonă propionat, ciclesonidă sau sărurile farmaceutic acceptabile ale acestora.

10 Alți agenți antiinflamatori, care acționează prin intermediul unor mecanisme de cascadă antiinflamatorii, de asemenea, sunt utili în calitate de agenți terapeutici suplimentari în combinație cu compușii cu formula (I) sau formula (II) pentru tratamentul infecțiilor virale ale căilor respiratorii. Aplicarea "modulatorilor antiinflamatori de transducție a semnalului" (indicați în continuare AISTM), cum ar fi inhibitorii fosfodiesterazei (de exemplu, PDE-4, PDE-5 sau PDE-7 specifice), inhibitorii

15 factorului de transcripție (de exemplu, care blochează NFκB prin inhibarea IKK) sau inhibitorii kinazei (de exemplu, care blochează p38 MAP, JNK, PI3K, EGFR sau Syk) este o abordare logică pentru oprirea inflamației, deoarece aceste molecule mici țintesc un număr limitat de căi intracelulare comune - acele căi de transmitere a semnalului, care sunt puncte critice pentru o intervenție terapeutică antiinflamatoare (raportul lui P.J. Barnes, 2006). Acești agenți terapeutici suplimentari nelimitativi

20 includ: (2-dimetilamino-etil)-amida acidului 5-(2,4-difluor-fenoxi)-1-izobutil-1H-indazol-6-carboxilic (p38 inhibitorul kinazei Arry-797); 3-ciclopropil-N-(3,5-diclor-piridin-4-il)-4-difluormetoxi-benzamidă (PDE-4 inhibitorul Roflumilast); 4-[2-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)-2-fenil-etil]-piridină (PDE-4 inhibitorul CDP-840); N-(3,5-diclor-4-piridinil)-4-(difluormetoxi)-8-[(metilsulfonil)amino]-1-dibenzofurancarboxamidă (PDE-4 inhibitorul Oglemilast); N-(3,5-diclor-piridin-4-il)-2-[1-(4-fluorbenzil)-5-hidroxi-1H-indol-3-il]-2-oxo-acetamidă (PDE-4 inhibitorul AWD 12-281); (3,5-diclor-1-oxy-piridin-4-il)-amida acidului 8-metoxi-2-trifluormetil-cuinolin-5-carboxilic (PDE-4 inhibitorul Sch 351591); 4-[5-(4-fluorfenil)-2-(4-metansulfonil-fenil)-1H-imidazol-4-il]-piridină (P38 inhibitorul SB-203850); 4-[4-(4-fluor-fenil)-1-(3-fenil-propil)-5-piridin-4-il-1H-imidazol-2-il]-but-3-in-1-ol (P38 inhibitorul RWJ-67657); esterul 2-dietilamino-etilic al acidului 4-cian-4-(3-ciclopentiloxi-4-metoxi-fenil)-ciclohexancarboxilic (promedicamentul esterul 2-dietil-etilic al Cilomilast, PDE-4 inhibitor); (3-clor-4-fluorfenil)-[7-metoxi-6-(3-morfolin-4-il-propoxi)-chinazolin-4-il]-amina (Gefitinib, inhibitorul EGFR) și 4-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-benzamidă (Imatinib, inhibitorul EGFR).

35 Combinațiile cu conținut de bronhodilatatori inhalați agoniști ai β2-adrenoreceptorilor, cum ar fi formoterol, albuterol sau salmeterol, cu compuși cu formula (I) sau formula (II) sunt, de asemenea, compoziții potrivite, dar nelimitative, care pot fi utilizate pentru tratamentul infecțiilor virale respiratorii.

40 Combinațiile de bronhodilatatori inhalați agoniști ai β2-adrenoreceptorilor, cum ar fi formoterol sau salmeterol, cu ICS, de asemenea, se utilizează pentru tratamentul atât al bronhoconstricției, cât și al inflamației (Symbicort® și Advair®, respectiv). Combinațiile, conținând acești ICS și combinațiile agoniștilor β2-adrenoreceptorilor împreună cu compușii cu formula (I) sau formula (II) sunt, de asemenea, combinații potrivite, dar nelimitând volumul prezentei invenții, care pot fi utilizate pentru tratamentul infecțiilor virale respiratorii.

45 Pentru profilaxia și tratamentul bronhostenozei pulmonare este posibilă utilizarea substanțelor anticolinergice și, deci, ele pot fi utilizate în calitate de agenți terapeutici suplimentari în combinație cu compușii cu formula (I) sau formula (II) pentru tratamentul infecțiilor virale respiratorii. Aceste anticolinergice includ, dar nefiind limitate, antagoniști ai receptorului muscarinic (în special, subtipul M3), care au demonstrat eficacitate terapeutică la om pentru suprimarea tonusului colinergic în BCOP (Witek, 1999); (1-metil-piperidin-4-ilmetil)-amida acidului 1-{4-hidroxi-1-[3,3,3-tris-(4-fluor-fenil)-propionil]-pirolidin-2-carbonil}-pirrolidine-2-carboxilic; 3-[3-(2-dietilamino-acetoxi)-2-fenil-propioniloxi]-8-izopropil-8-metil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octan (ipratropium-N,N-dietilglicinat); 1-aza-biciclo[2.2.2]oct-3-il esterul acidului 1-ciclohexil-3,4-dihidro-1H-izochinolin-2-carboxilic acid (Solifenacin); esterul 1-aza-biciclo[2.2.2]oct-3-ilic al acidului 2-hidroximetil-4-metansulfonil-2-fenil-butiric (Revatropate); 2-[1-[2-(2,3-dihidro-benzofuran-5-il)-etil]-pirolidin-3-il]-2,2-difenil-acetamidă (Darifenacin); 4-azepan-1-il-2,2-difenil-butiramidă (Buzepide); 7-[3-(2-dietilamino-acetoxi)-2-fenil-propioniloxi]-9-etil-9-metil-3-oxa-9-azonia-triciclo[3.3.1.0^{2,4}]nonan (oxitropium-N,N-dietilglicinat); 7-[2-(2-dietilamino-acetoxi)-2,2-di-tiofen-2-il-acetoxi]-9,9-dimetil-3-oxa-9-azonia-triciclo[3.3.1.0^{2,4}]nonan (tiotropium-N,N-dietilglicinat); esterul 2-(3-diizopropilamino-1-fenil-propil)-4-metil-fenilic al acidului dimetilamino-acetic (tolterodin-N,N-dimetilglicinat); 3-[4,4-Bis-(4-fluor-

fenil)-2-oxo-imidazolidin-1-il]-1-metil-1-(2-oxo-2-piridin-2-il-etil)-pirolidiniu; 1-[1-(3-Fluor-benzil)-piperidin-4-il]-4,4-bis-(4-fluor-fenil)-imidazolidin-2-onă; 1-ciclooctil-3-(3-metoxi-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il)-1-fenil-prop-2-in-1-ol; 3-[2-(2-dietilamino-acetoxi)-2,2-di-tiofen-2-il-acetoxi]-1-(3-fenoxi-propil)-1-azonia-bicyclo[2.2.2]octan (aclidinium-N,N-dietilglicinat) sau esterul 1-metil-1-(2-fenoxi-etil)-piperidin-4-ilic al acidului (2-dietilamino-acetoxi)-di-tiofen-2-il-acetic.

Compușii cu formula (I) sau formula (II) pot fi, de asemenea, combinați cu agenți mucolitici pentru tratarea atât a infecției, cât și a simptomelor infecției respiratorii. Un exemplu nelimitativ de un agent mucolitic este ambroxol. În mod similar, compușii cu formula (I) sau formula (II) pot fi combinați cu expectorante pentru tratarea atât a infecției, cât și a simptomelor infecției respiratorii. Un exemplu nelimitativ de expectorant este guaifenesin.

Soluția salină hipertonică pentru tratamentul inhalator este utilizată în scopul de a folosi mai eficient imediat și pentru o perioadă îndelungată lumenul căilor respiratorii mici la pacienții cu boli pulmonare (Kuzik. J. Pediatrie, 2007, p. 266). Compușii cu formula (I) sau formula (II) pot fi, de asemenea, asociați cu o soluție salină hipertonică pulverizată, în special, când infecția cu virusul *Pneumovirinae* este complicată cu bronșiolită. Combinația compușilor cu formula (I) sau formula (II) cu soluție hipertonică, de asemenea, poate include oricare dintre agenții suplimentari discutați mai sus. Într-o variantă de realizare se utilizează pulverizarea a circa 3% de soluție salină hipertonică.

În plus, se poate combina orice compus cu unul sau câțiva agenți terapeutici activi suplimentari într-o formă de dozare unitară pentru administrare simultană sau succesivă la un pacient. Preparatul terapeutic combinat poate fi administrat în regim de administrare simultan sau succesiv. Atunci când este administrat succesiv, combinația poate fi administrată în două sau mai multe administrări.

Administrarea concomitentă a unui compus, conform prezentei invenții, cu unul sau câțiva alți agenți terapeutici activi, în general, se referă la administrarea simultană sau succesivă a unui compus și a unui sau a mai mulți alți agenți terapeutici activi, astfel încât în organismul pacientului să persiste cantități terapeutice eficiente atât de compus, cât și de unul sau mai mulți alți agenți terapeutici activi.

Coadministrarea include administrarea dozelor standard de compuși înainte sau după administrarea dozelor standard de unul sau mai mulți alți agenți terapeutici activi, de exemplu, administrarea compușilor timp de câteva secunde, minute sau ore după administrarea unui sau mai multor agenți terapeutici activi. De exemplu, doza standard de un compus poate fi administrată prima, urmată peste câteva secunde sau minute de administrarea unei doze standard de unul sau mai mulți alți agenți terapeutici activi. Alternativ, o doză standard de unul sau mai mulți alți agenți terapeutici poate fi administrată în primul rând, urmată de administrarea unei doze standard de compus în câteva secunde sau minute. În unele cazuri poate fi de dezirabilă administrarea în primul rând a dozei standard de compus, urmată, peste câteva ore (de exemplu, 1...12 ore), de administrarea unei doze standard de unul sau mai mulți alți agenți terapeutici activi. În alte cazuri poate fi de dezirabilă administrarea dozei standard de unul sau mai mulți agenți terapeutici activi în primul rând, urmată, peste câteva ore (de exemplu, 1...12 ore), de administrarea unei doze standard de compus, conform prezentei invenții.

Terapia combinată poate asigura "sinergism" și "efect sinergistic", adică efectul, care este obținut la utilizarea ingredientelor active împreună și depășește suma efectelor, care rezultă din utilizarea separată a compușilor. Un efect sinergistic poate fi atins atunci când ingredientele active sunt: (1) coformulate și administrate sau livrate simultan într-o formulare combinată; (2) livrate prin alternare sau paralel în compoziții separate; sau (3) administrate printr-un alt regim. La livrate în terapia alternantă un efect sinergistic poate fi atins atunci când compușii sunt administrați sau livrați succesiv, de exemplu, în comprimate, drajeuri sau capsule separate, sau prin diferite injecții în seringi separate. În general, în timpul terapiei de alternare o doză eficientă de fiecare ingredient activ se administrează succesiv, adică pe rând, în timp ce în terapia combinată dozele eficiente de două sau mai multe ingrediente active se administrează împreună. Un efect antiviral sinergistic denotă un efect antiviral care depășește efectele prezise pur aditive ale compușilor individuali ai combinației.

Încă într-o variantă de realizare a prezentei invenții se prevede o metodă de tratare a infecției cu virusul *Pneumovirinae* la om, metodă care prevede administrarea la om a unei cantități terapeutice eficiente de compus cu formula (I) sau de sare, solvat și/sau ester farmaceutic acceptabil al acestuia. De asemenea, se prevăd unele metode de tratare a infecției cu virusul *Pneumovirinae* la om, fiecare din care prevede administrarea la om a unei cantități terapeutice eficiente farmaceutice eficiente de compus cu formula (II) sau de unul dintre compușii concreți din exemplele, prezentate în această descriere, sau de sare, solvat și/sau ester farmaceutic acceptabil al acestuia și un purtător și un excipient farmaceutic acceptabil.

Într-o altă variantă de realizare a invenției se prevede o metodă de tratare a infecției cu *Pneumovirinae* la om prin administrarea la om a unei cantități terapeutice eficiente de racemat,

enantiomer, diastereomer, tautomer, polimorf, pseudopolimorf, formă amorfă, hidrat sau solvat de un compus cu formula (I) sau de sare sau ester farmaceutic acceptabil al acestuia.

În plus, sunt propuse unele metode de tratare a infecției cu *Pneumovirinae* la un om, care are nevoie de aceasta, în care fiecare metodă include administrarea la om a unei cantități terapeutic eficiente de racemat, enantiomer, diastereomer, tautomer, polimorf, pseudopolimorf, formă amorfă, hidrat sau solvat de compus cu formula (II) sau de unul dintre compușii concreți din exemplele, prezentate în acest document, sau de sare, solvat și/sau ester farmaceutic acceptabil al acestuia.

Încă într-o variantă de realizare a prezentei invenții se prevede o metodă de tratare a infecției cu virusul sincitial respirator uman la om, metodă care include administrarea la om a unei cantități terapeutic eficiente de un compus cu formula (I) sau de o sare, solvat și/sau ester farmaceutic acceptabil al acestuia.

Încă într-o variantă de realizare a prezentei invenții se prevede o metodă de tratare a infecției cu virusul sincitial respirator uman la om, metodă care include administrarea la om a unei cantități terapeutic eficiente de un compus cu formula (I) sau de o sare, solvat și/sau ester farmaceutic acceptabil al acestuia și cel puțin un agent terapeutic activ suplimentar.

În plus, se propun unele metode de tratare a infecției cu virusul sincitial respirator uman la un om, care are nevoie de aceasta, fiecare metodă include administrarea la om a unei cantități terapeutic eficiente de compus cu formulă (II) sau de unul dintre compușii concreți din exemplele, prezentate în acest document, sau de o sare, solvat și/sau ester farmaceutic acceptabil al acestuia.

De asemenea, se propun unele metode de tratare a infecției cu virusul sincitial respirator uman la un om, care are nevoie de aceasta, fiecare metodă include administrarea la om a unei cantități terapeutic eficiente de compus cu formulă (II) sau de unul dintre compușii concreți din exemplele, prezentate în acest document, sau de o sare, solvat și/sau ester farmaceutic acceptabil al acestuia și cel puțin un agent terapeutic activ suplimentar.

De asemenea, se propun unele metode de tratare a infecției cu virusul sincitial respirator uman la un om, care are nevoie de aceasta, în care omul, adițional, suferă de bronșiolită, fiecare metodă include administrarea la om a unei cantități terapeutic eficiente de compus cu formulă (I), formula (II) sau de unul dintre compușii concreți din exemplele, prezentate în acest document, sau de o sare, solvat și/sau ester farmaceutic acceptabil al acestuia.

De asemenea, se propun unele metode de tratare a infecției cu virusul sincitial respirator uman la un om, care are nevoie de aceasta, în care omul, adițional, suferă de pneumonie, fiecare metodă include administrarea la om a unei cantități terapeutic eficiente de compus cu formulă (I), formula (II) sau de unul dintre compușii concreți din exemplele, prezentate în acest document, sau de o sare, solvat și/sau ester farmaceutic acceptabil al acestuia.

De asemenea, se propun unele metode de ameliorare a simptomelor de boli respiratori la un om, care suferă de infecție cu virusul sincitial respirator uman, fiecare metodă include administrarea la om a unei cantități terapeutic eficiente de compus cu formulă (I), formula (II) sau de unul dintre compușii concreți din exemplele, prezentate în acest document, sau de o sare, solvat și/sau ester farmaceutic acceptabil al acestuia.

Simptomele respiratorii la un om, care se confruntă cu o infecție cu virusul sincitial respirator, pot include secreții nazale congestionate sau guturai, tuse, respirație șuierătoare, strănut, respirație rapidă sau dificultăți de respirație, apnee, pneumonie și bronșiolită.

De asemenea este prevăzută o variantă de realizare a invenției, care cuprinde utilizarea compusului cu formula (I) sau sării, solvatului și/sau esterului farmaceutic acceptabil al acestuia, pentru fabricarea unui medicament pentru tratamentul infecției cu virusul *Pneumovirinae* sau cu infecție cu virus sincitial respirator.

De asemenea este prevăzută o variantă de realizare a invenției, care cuprinde utilizarea compusului cu formula (II) sau a unor din compușii concreți din exemplele, prezentate în acest document, sau sării, solvatului și/sau esterului farmaceutic acceptabil al acestora, pentru fabricarea unui medicament pentru tratamentul infecției cu virusul *Pneumovirinae* sau cu infecție cu virus sincitial respirator.

De asemenea este prevăzută o compoziție farmaceutică care conține o cantitate farmaceutic eficientă de compus cu formulă (I) sau de sare, solvat și/sau ester farmaceutic acceptabil al acestuia și un purtător sau excipient farmaceutic acceptabil. În plus, se propune o compoziție farmaceutică care conține o cantitate farmaceutic eficientă de compus cu formula (II) sau de unul din compușii concreți din exemplele, prezentate în acest document, sau de sare, solvat și/sau ester farmaceutic acceptabil al acestuia și un purtător și excipient farmaceutic acceptabil.

De asemenea este prevăzută o compoziție farmaceutică care conține o cantitate farmaceutic eficientă de compus cu formula (I) sau de sare, solvat și/sau ester farmaceutic acceptabil al acestuia și un purtător sau excipient farmaceutic acceptabil și o cantitate farmaceutic eficientă de cel puțin un agent terapeutic

activ suplimentar. În plus, se propune o compoziție farmaceutică care conține o cantitate farmaceutic eficientă de compus cu formula (II) sau de unul din compușii concreți din exemplele, prezentate în acest document, sau de sare, solvat și/sau ester farmaceutic acceptabil al acestuia și un purtător și excipient farmaceutic acceptabil și o cantitate farmaceutic eficientă de cel puțin un agent terapeutic activ suplimentar.

De asemenea, se propun unele variante de realizare a invenției, care includ compusul cu formula (I), formula (II) sau unul din compușii concreți din exemplele, prezentate în acest document, sau o sare, solvat și/sau ester farmaceutic acceptabil al acestuia pentru utilizare în tratamentul infecției cu virusul *Pneumovirinae* sau infecției cu virus sincitial respirator la un om.

De asemenea, se propun unele variante de realizare a invenției, care includ compusul cu formula (I), formula (II) sau unul din compușii concreți din exemplele, prezentate în acest document, sau o sare, solvat și/sau ester farmaceutic acceptabil al acestuia pentru utilizare în calitate de medicament.

De asemenea, sunt propuse unele variante de realizare a invenției, care includ o metodă de preparare a unui medicament, destinat pentru tratamentul infecției cu virusul *Pneumovirinae* sau infecției cu virus sincitial respirator uman, caracterizată prin aceea că se utilizează un compus cu formula (I), formula (II) sau unul din compușii concreți din exemplele, prezentate în acest document, sau o sare, solvat și/sau ester farmaceutic acceptabil al acestuia.

De asemenea se propune un compus cu formula (I) sau o sare, solvat și/sau ester farmaceutic acceptabil al acestuia pentru tratamentul infecției cu virusul *Pneumovirinae* sau infecției cu virusul sincitial respirator la om.

De asemenea, sunt propuse unele variante de realizare a invenției, care includ compusul cu formula (II) sau unul din compușii concreți din exemplele, prezentate în acest document, sau o sare, solvat și/sau ester farmaceutic acceptabil al acestuia pentru tratamentul infecției cu virusul *Pneumovirinae* sau infecției cu virusul sincitial respirator la om.

În plus, se propune un compus, descris în această descriere. De asemenea, se propune o compoziție farmaceutică, descrisă în această descriere. De asemenea, se propune o metodă de utilizare a compusului cu formula (I), descrisă în această descriere. În plus, se propune o metodă de obținere a compusului cu formula (I), descrisă în această descriere.

Metaboliții compușilor

În plus, în cadrul prezentei invenții se includ produsele metabolice *in vivo* ale compușilor descriși aici, în măsura în care aceste produse sunt noi și neevidente din stadiul anterior al tehnicii. Asemenea produse pot rezulta, de exemplu, din oxidarea, reducerea, hidroliza, amidarea, esterificarea, etc., compusului administrat, în primul rând, datorită proceselor enzimatică. Prin urmare, sunt incluși compușii noi și neevidenți, produși printr-o metodă care include contactarea compusului cu organismul unui mamifer pentru o perioadă de timp, suficientă pentru a forma un produs metabolic al acestuia. Astfel de produse sunt de obicei identificate prin prepararea unui compus radiomarcant cu izotop (de exemplu, ^{14}C sau ^3H), administrarea acestuia parenteral într-o doză detectabilă (de exemplu, mai mare de aproximativ 0,5 mg/kg) la un animal, cum ar fi șobolan, șoarece, cobai, maimuță sau om, oferind suficient timp pentru realizarea metabolizării (de obicei, aproximativ 30 de secunde până la 30 de ore) și izolând produsele de conversie din urină, sânge sau alte probe biologice. Aceste produse sunt ușor izolate, deoarece ele sunt marcate (altele sunt izolate prin utilizarea anticorpilor, capabili de legarea epitopilor, care se mențin în metabolit). Structurile metaboliților sunt determinate în mod uzual, de exemplu prin analiza SM sau RMN. În general, analiza metaboliților se realizează în același mod ca și studiile obișnuite ale metabolismului medicamentelor, bine cunoscute specialiștilor în domeniu. Produsele de conversie, cu condiția că acestea într-un alt mod nu se determină *in vivo*, pot fi utilizate în testele de diagnostic pentru dozarea terapeutică a compușilor, chiar dacă aceștia înseși nu posedă activitate antivirală HSV.

Mijloacele și metodele de determinare a stabilității compușilor în secrețiile gastrointestinale substituente sunt cunoscute. Compușii sunt definiți în acest document ca fiind stabili în tractul gastro-intestinal, unde mai puțin de circa 50% molar din grupurile protejate sunt deprotejate în sucul gastric substituit sau intestinal la incubare timp de 1 oră la 37°C. Pur și simplu stabilitatea compușilor în tractul gastro-intestinal nu înseamnă, că ei nu pot fi hidrolizați *in vivo*. Promedicamentele, de obicei, sunt stabile în sistemul digestiv, dar pot fi hidrolizate semnificativ până la preparatul inițial în lumenul digestiv, în ficat, plămâni sau în alt organ metabolic, sau, în general, în celule. Așa cum se utilizează în prezentul context, prin promedicament se înțelege un compus care este destinat chimic pentru eliberarea eficientă a medicamentului inițial după depășirea barierelor biologice la o administrare orală.

Abrevieri

MD 4596 B1 2018.10.31

18

În descrierea detaliilor experimentelor se folosesc unele abrevieri și acronime. Cu toate că majoritatea din ele sunt înțelese unui specialist în domeniu, în tab. 1 este prezentată lista multor dintre aceste abrevieri și acronime.

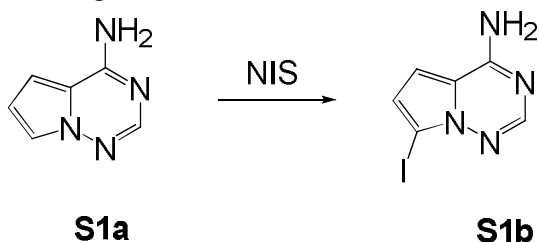
Lista abrevierilor și acronimelor

5

Tabelul 1

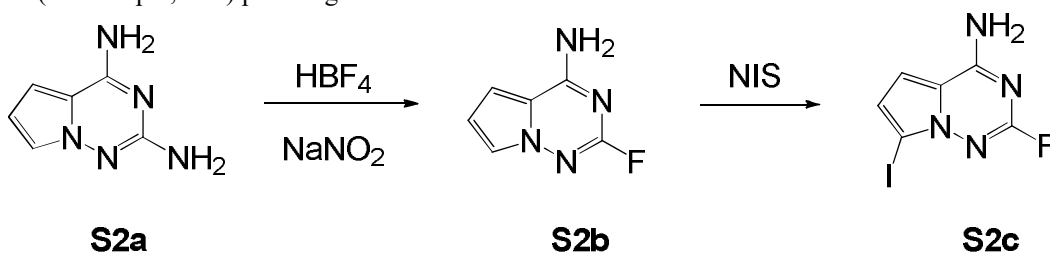
<u>Abreviere</u>	<u>Semnificația</u>
Ac	acetat
ACN	acetonitril
AIBN	azobisisobutironitril
Bn	benzil
Bu	butil
Bz	benzoil
BzCl	clorură de benzoil
CDI	1,1'-carbonildiimidazol
DAST	trifluorură de dietilaminosulf
DCE	1,2-diclorețan
DCM	diclormetan
DMAP	4-dimetilaminopiridină
DMDO	dimetildioxiran
DSMO	dimetilsulfoxid
DMF	dimetilformamidă
DMTrCl	4,4'-dimetoxitritilclorură
DMTr	4,4'-dimetoxitritil
EDCI	hidroclorură de <i>N</i> -(3-dimetilaminopropil)- <i>N'</i> -etilcarbodiimidă
Et	etil
Imid	imidazol
KOtBu	terț-butoxid de potasiu
CL	cromatografia lichidelor
MCPBA	acid meta-clorperbenzoic
Me	metil
m/z	raportul masă la sarcină
SM sau sm	spectrul de masă
NIS	<i>N</i> -iodsuccinimida
NMP	<i>N</i> -metil-2-pirolidon
Ph	fenil
Ph ₃ P	trifenilfosfină
PMB	<i>para</i> -metoxibenzil
PMBCl	clorură de <i>para</i> -metoxibenzil
PhOC(S)Cl	fenilclorionformiat
(PhO) ₃ PMeI	iodură de metiltrifenoxifosfoniu
Pir	piridină
TEMPERATURA CAMEREI	temperatura camerei
TBAF	fluorură de tetrabutilamoniu
TBS	<i>terț</i> -butildimetilsilil
TBSCl	clorură de <i>terț</i> -butildimetilsilil
TSMN ₃	trimetilsilil azidă
TEA	trietilamină
TES	trietilsilan
TFA	acid trifluoracetic
THF	tetrahidrofur
TSM	trimetilsilil
TSMCl	clorură de trimetilsilil
Ts	4-toluensulfonil
TsOH	acid tosolic
δ	parți per milion, indicate în raport cu vârful rezidual al solventului nedeuterat

Schema generală



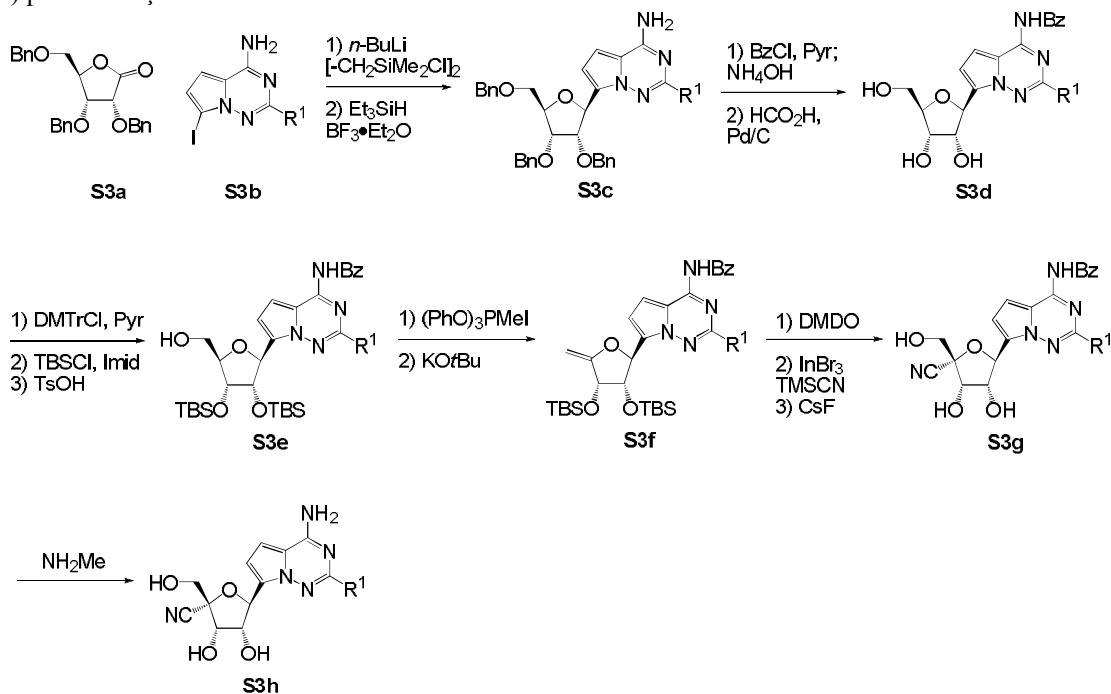
Schema 1

5 În schema 1 este prezentată sinteza generală a compușilor intermediari, începând cu reacția de iodare (de exemplu, NIS) până la generarea bazei nucleinice S1b.



Schema 2

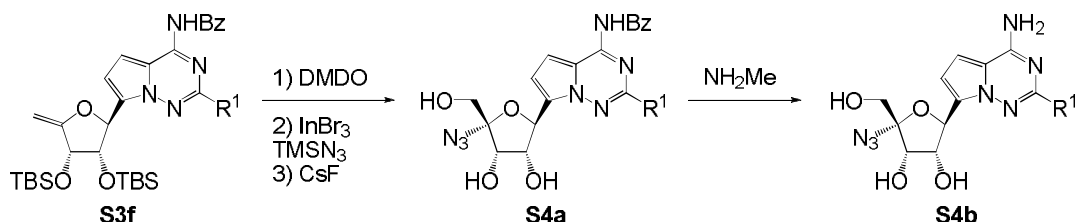
10 În schema 2 este prezentată sinteza generală a compușilor intermediari, începând cu reacția de fluorinare (de exemplu, HBF₄, NaNO₂) printr-o metodă similară metodei descrise în WO2012037038A1 cu obținerea compusului intermediar S2b. Compusul intermediar S2b poate fi apoi iodinat (de exemplu, NIS) pentru a obține baza nucleică S2c.



15 Schema 3

20 În schema 3 este prezentată sinteza generală a compușilor, începând cu reacția de modificare a litiu-halogenului (de exemplu, interacțiunea *n*-BuLi, [-CH₂SiMe₂Cl]₂) cu o bază nucleică corespunzătoare S3b, urmată de adăptarea la o lactonă S3a. Reducerea grupei 1' hidroxil laterale în condiții de mediu acid Lewis (de exemplu, BF₃·Et₂O, Et₃SiH) generează compusul intermediar S3c. Compusul intermediar S3c poate fi întâi protejat (de exemplu, BzCl, Pir; NH₄OH) la grupa de azot funcțională și grupele benzil pot fi apoi izolate în condiții de reducere (de exemplu, HCO₂H, Pd/C, BCl₃, BBr₃) cu obținerea compusului intermediar S3d. Secvența, care include inițial protecția selectivă a 5' hidroxil (de exemplu DMTrCl), apoi protecția 2' și 3' hidroxil (de exemplu, TBSCl), urmată de eliminarea selectivă a grupei

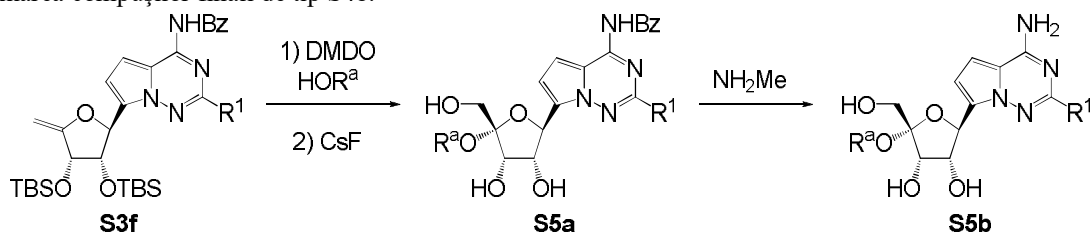
- de protecție 5' hidroxil în condiții acide (de exemplu, TsOH) conduce la formarea compusului intermediar S3e. Grupa 5' hidroxil poate fi apoi transformată în iodura corespunzătoare (de exemplu, $(\text{PhO})_3\text{PMeI}$), care apoi se supune acțiunii unor condiții bazice (cum ar fi KO^tBu) pentru realizarea reacției de eliminare, generând compusul intermediar S3f. Oxidarea olefinei S3f (de exemplu, DMDO) urmată de tratarea cu un nucleofil potrivit (de exemplu, TSMCN) în condiții acide Lewis (de exemplu, InBr_3) și eliminarea grupelor de protecție hidroxil (de exemplu, CsF) rezultă cu compusul intermediar S3g. Eliminarea grupei de protecție de azot (de exemplu, NH_2Me) rezultă cu compușii finali de tip S3h.



10

Schema 4

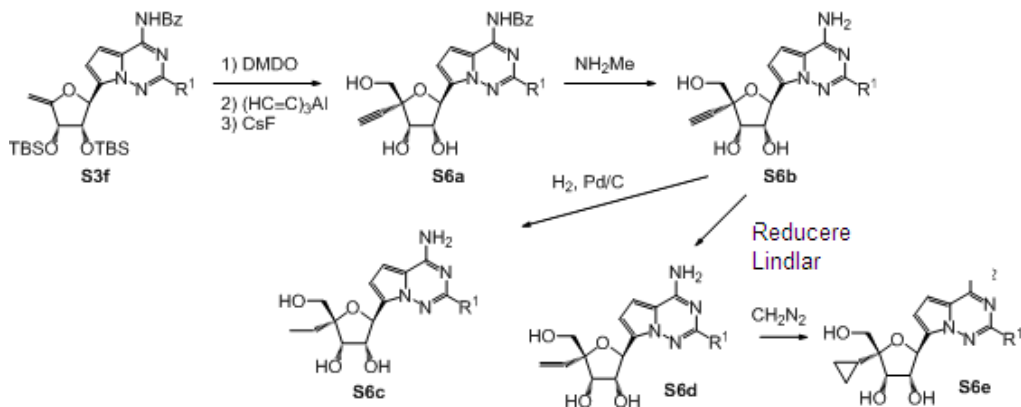
- În schema 4 este prezentată sinteza generală a compușilor, pornind de la oxidarea olefinei S3f (de exemplu, DMDO) cu tratarea ulterioară cu un nucleofil potrivit (de exemplu, TSMN_3) în condiții acide (de exemplu, InBr_3) printr-o metodă similară celei descrise în literatura de specialitate (J. Med. Chem. 50, 2007, p. 5463-5470). Eliminarea grupelor hidroxil de protecție (de exemplu, CsF) rezultă apoi cu compusul intermediar S4a. Eliminarea grupei de protecție de azot (de exemplu, NH_2Me) conduce la formarea compușilor finali de tip S4b.



Schema 5

- În schema 5 este prezentată sinteza generală a compușilor, pornind de la oxidarea olefinei S3f (de exemplu, DMDO) în prezența alcoolului potrivit HOR^a , urmată de eliminarea grupelor hidroxil de protecție (de exemplu, CsF) cu formarea compusului intermediar S5a. Eliminarea grupei de protecție de azot (de exemplu, NH_2Me) conduce la formarea compușilor finali de tip S5b.

25



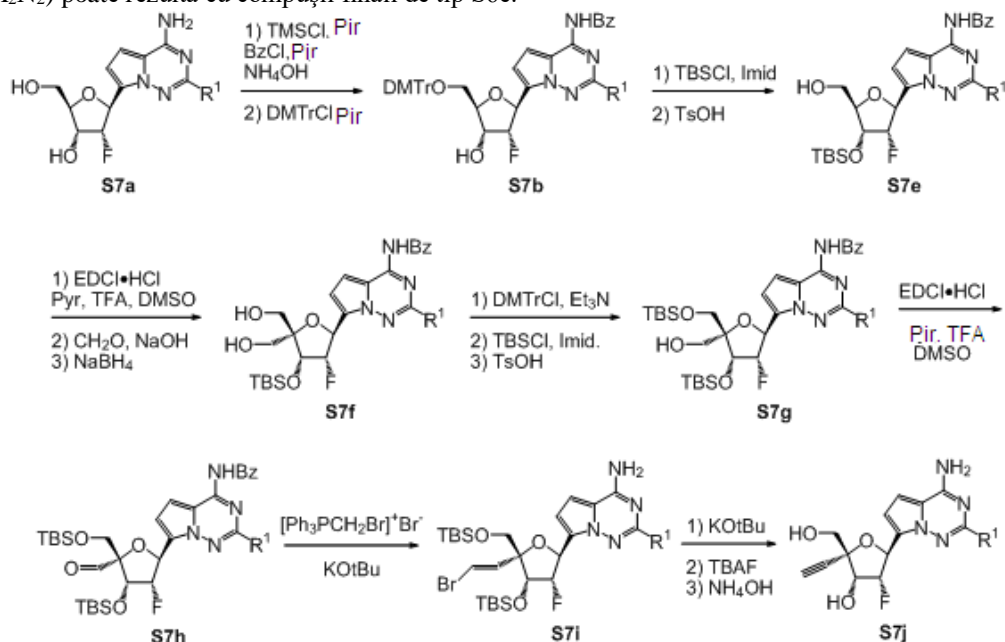
Schema 6

- În schema 6 este prezentată sinteza generală a compușilor, pornind de la oxidarea olefinei S3f (de exemplu, DMDO), urmată ulterior de tratarea cu un nucleofil potrivit (de exemplu, $(\text{HC}\equiv\text{C})_3\text{Al}$) printr-o metodă similară celei descrise în literatura de specialitate (Nucleosides, Nucleotides și Nucleic Acids, 24, 2005, p. 343-347). Eliminarea grupelor hidroxil de protecție (de exemplu, CsF) rezultă apoi cu

30

compusul intermediar S6a. Eliminarea grupei de protecție de azot (de exemplu, NH₂Me) conduce la formarea compușilor finali de tip S6b. Tratarea compusului final în condiții de hidrogenare (de exemplu, H₂, Pd/C sau condiții Lindlar) poate conduce la formarea selectivă a compușilor finali de tip S6c și S6d, respectiv. Tratarea compusului final S6d prin formarea inelului de ciclopropan (de exemplu, CH₂N₂) poate rezulta cu compușii finali de tip S6e.

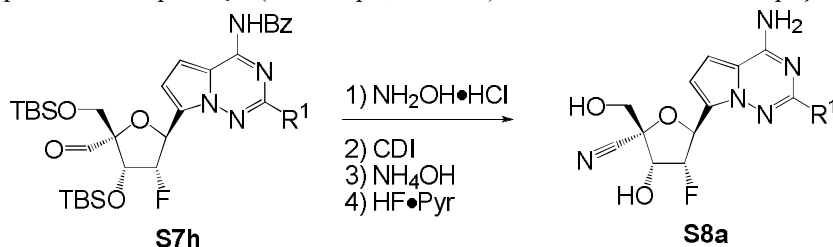
5



Schema 7

În schema 7 este prezentată sinteza generală a compușilor, începând de la secvența sintetică de protecție a azotului (de exemplu, TSMCl, Pir; BzCl, Pir; NH₄OH) a compusului intermediar S7a, sintetizat printr-o metodă similară celei descrise în literatura brevetară [12]. Protecția selectivă a grupei 5' hidroxil (de exemplu, DMTrCl) generează apoi compusul intermediar S7b. Protecția grupei 2' hidroxil (de exemplu, TBSCl), urmată de eliminarea grupei 5' hidroxil în condiții acide (de exemplu, TsOH), rezultă cu compusul intermediar S7e. Transformarea grupei 5' hidroxil într-o aldehydă în condiții oxidative (de exemplu, EDCI-HCl, Pir, TFA, DSMO), urmată de condensarea enolatului corespunzător cu formaldehidă și reducere (de exemplu, NaBH₄), rezultă cu compusul intermediar S7f. Protecția selectivă ulterioară a grupelor hidroxil cu grupe de protecție ortogonale (de exemplu, DMTrCl și TBSCl), urmată de eliminarea grupei de protecție mai labile în condiții acide (de exemplu, TsOH), rezultă apoi cu compusul intermediar S7g. Transformarea grupei hidroxil într-o aldehydă în condiții oxidative (de exemplu, EDCI-HCl, Pir, TFA, DSMO) generează compusul intermediar S7h. Transformarea aldehydei S7h compusul intermediar halo-olefin S7i poate fi realizată în condiții de olefinare Wittig (de exemplu, [Ph₃PCH₂Br]⁺Br⁻, KOtBu). Reacția de eliminare în condiții bazice (de exemplu, KOtBu) generează alchină și eliminarea grupelor hidroxil de protecție (de exemplu, TBAF) și grupei de azot de protecție (de exemplu, NH₄OH) conduce la formarea compușilor finali de tip S7j.

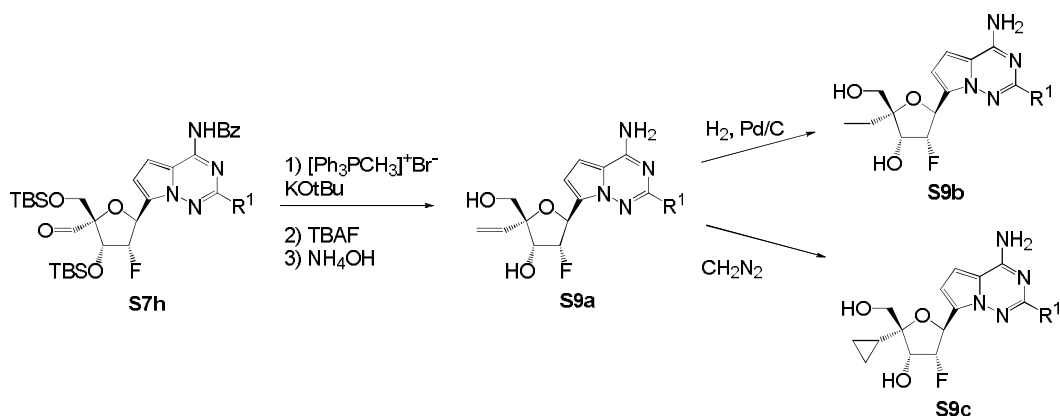
20



25

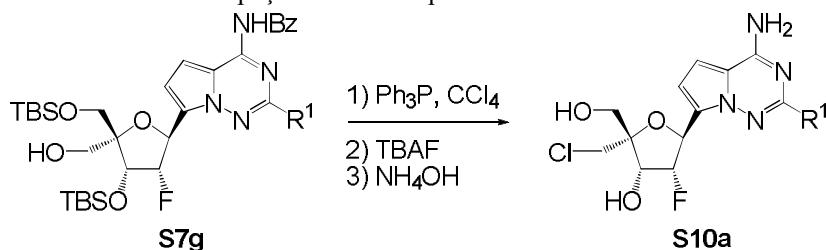
Schema 8

În schema 8 este prezentată sinteza generală a compușilor, începând cu formarea oximei (de exemplu, NH₂OH-HCl), urmată de transformarea oximei în grupă nitril (de exemplu, CDI). Eliminarea grupei de azot de protecție (de exemplu, NH₄OH) și grupelor hidroxil de protecție (de exemplu, HF-Pyr) conduce apoi la formarea compușilor finali de tip S8a.



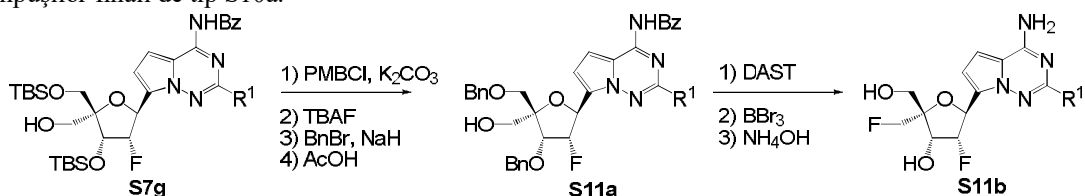
Schema 9

În schema 9 este prezentată sinteza generală a compușilor, începând cu transformarea aldehidei S7h în olefină în condițiile de olefinare Wittig (de exemplu, $[\text{Ph}_3\text{PCH}_3]^+\text{Br}^-$, KOTBu). Eliminarea grupelor hidroxil de protecție (de exemplu, TBAF) și grupele de azot de protecție (de exemplu, NH_4OH) conduce la formarea compușilor finali de tip S9a. Condițiile de reducere (de exemplu, H_2 , Pd/C) pot apoi genera compușii finali de tip S9b și reacția de formare a inelului de ciclopropan (de exemplu, CH_2N_2) poate conduce la formarea compușilor finali de tip S9c.



Schema 10

În schema 10 este prezentată sinteza generală a compușilor, începând cu o reacție Appel (de exemplu, Ph_3P , CCl_4) de transformare a grupele hidroxil într-o clorură. Eliminarea grupelor hidroxil de protecție (de exemplu, TBAF) și grupele de azot de protecție (de exemplu, NH_4OH) conduce la formarea compușilor finali de tip S10a.

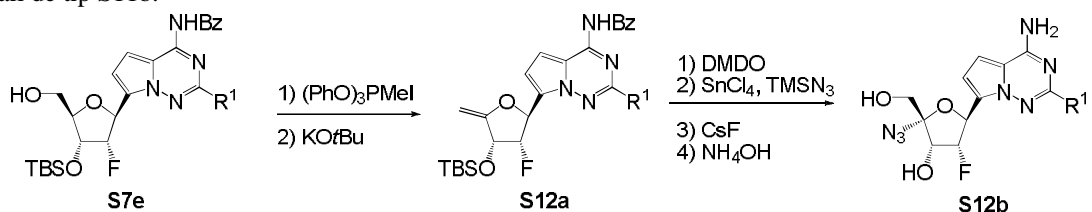


15

Schema 11

În schema 11 este prezentată sinteza generală a compușilor, începând cu protecția grupele hidroxil libere din compusul intermediar S7g cu o grupă de protecție mobilă (de exemplu, PMBCl, K_2CO_3). Eliminarea selectivă a grupelor de protecție siloxi 2' și 5' (de exemplu, TBAF), urmată de protecția repetată cu grupe de protecție stabile (de exemplu, BnBr, NaH) și eliminarea grupele hidroxil de protecție labile în condiții acide (de exemplu, AcOH) rezultă cu compusul intermediar S11a. Conversia grupele hidroxil în fluor (de exemplu, DAST), urmată de eliminarea grupelor hidroxil de protecție (de exemplu, BBr_3) și grupele de azot de protecție (de exemplu, NH_4OH) conduce la formarea compușilor finali de tip S11b.

25



Schema 12

În schema 12 este prezentată sinteza generală a compușilor, începând cu conversia grupei hidroxil 5' într-o iodură corespunzătoare (de exemplu, $(\text{PhO})_3\text{PMeI}$), care apoi se tratează în condiții bazice (cum ar fi $\text{KO}t\text{Bu}$) pentru efectuarea reacției de eliminare, generând compusul intermediar S12a. Oxidarea olefinei S12a (de exemplu, DMDO) cu tratarea ulterioară cu un nucleofil potrivit (de exemplu, TSMN_3) în condiții acide Lewis (de exemplu, SnCl_4) printr-o metodă similară metodei descrise în literatura de specialitate (J. Med. Chem. 50, 2007, p. 5463-5470) și eliminarea grupelor hidroxil de protecție (de exemplu, CsF) și grupei de azot de protecție (de exemplu, NH_4OH) conduce la formarea compușilor finali de tip S12b.

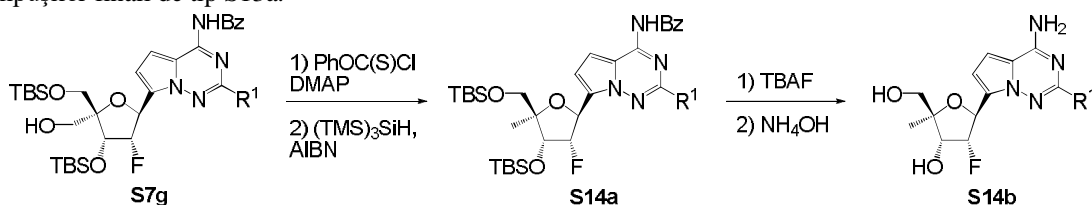


10

Schema 13

În schema 13 este prezentată sinteza generală a compușilor, pornind de la oxidarea olefinei S12a (de exemplu, DMDO) în prezența alcoolului potrivit HOR^a și eliminarea grupelor hidroxil de protecție (de exemplu, CsF). Eliminarea grupei de azot de protecție (de exemplu, NH_2Me) conduce la formarea compușilor finali de tip S13a.

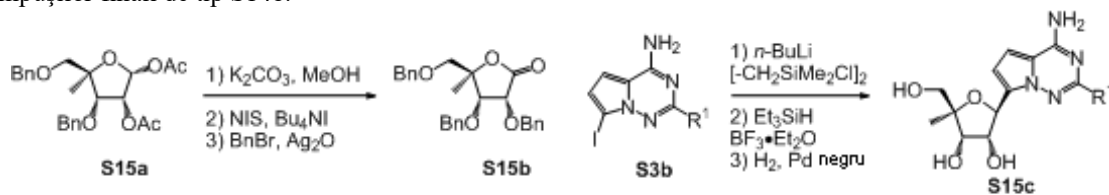
15



Schema 14

În schema 14 este prezentată sinteza generală a compușilor, începând cu formarea xantatului (de exemplu, PhOC(S)Cl , DMAP) cu reacția ulterioară de deoxigenare Barton–McCombie (de exemplu, $(\text{TSM})_3\text{SiH}$, AIBN) pentru a obține compusul intermediar S14a. Eliminarea grupelor hidroxil de protecție (de exemplu, TBAF) și grupei de azot de protecție (de exemplu, NH_4OH) conduce la formarea compușilor finali de tip S14b.

20

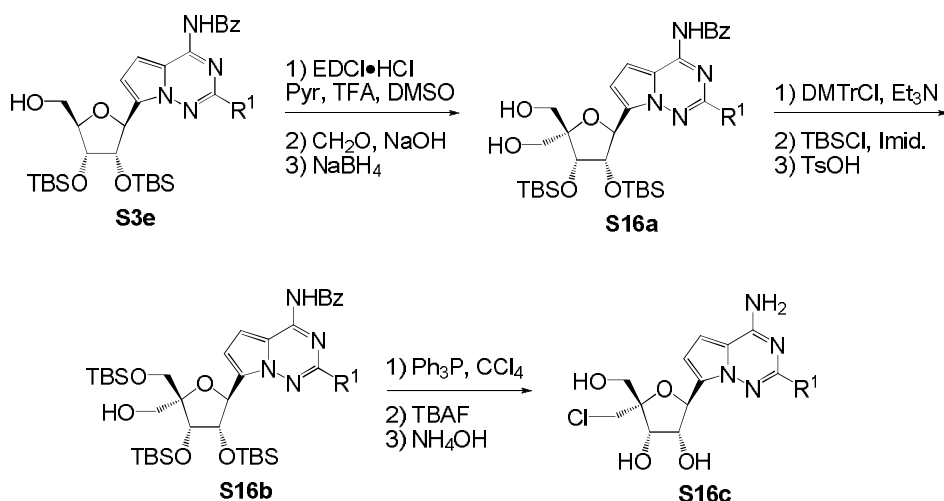


25

Schema 15

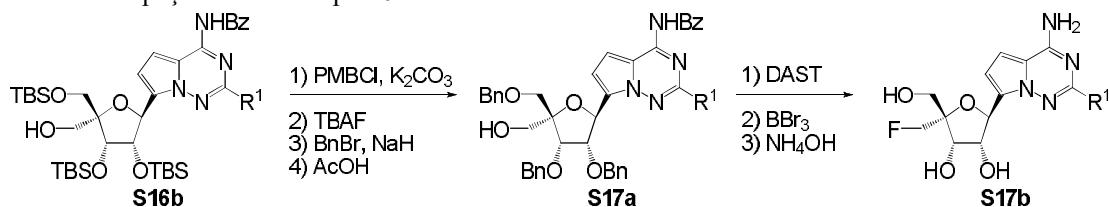
În schema 15 este prezentată sinteza generală a compușilor, începând cu compusul intermediar S15a, preparat printr-o metodă similară celei descrise în literatura de specialitate (Biosci. Biotech. Biochem. 57, 1993, p. 1433-1438). Eliminarea grupelor acetat de protecție, utilizând condiții de hidroliză (de exemplu, K_2CO_3 , MeOH), apoi condiții de oxidare chemoselectivă (de exemplu, NIS , Bu_4NI) și protecția grupei hidroxil 2' (de exemplu, BnBr , Ag_2O), generează compusul intermediar S15b. Schimbul litiu-halogen (de exemplu, $n\text{-BuLi}$, $[-\text{CH}_2\text{SiMe}_2\text{Cl}]_2$) cu o bază nucleinică potrivită S3b și adăția lactonei S15b, urmată de reducerea grupei hidroxil 1' în condiții acide Lewis (de exemplu, $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, Et_3SiH) și deprotecția (de exemplu, H_2 , Pd negru) conduce la formarea compușilor finali de tip S15c.

30



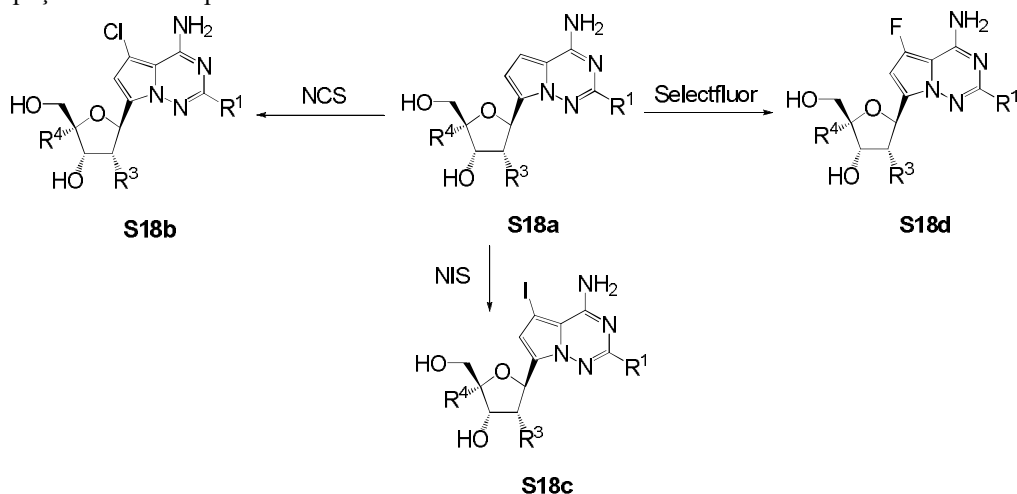
Schema 16

În schema 16 este prezentată sinteza generală a compușilor, începând cu conversia grupeii hidroxil 5' în aldehydă în condiții oxidative (de exemplu, EDCI·HCl, Pir, TFA, DMSO) cu condensarea ulterioară a enolatului corespunzător cu formaldehidă și reducere (de exemplu, NaBH₄) conduce la formarea compusului intermediar S16a. Protecția selectivă ulterioară a grupelor hidroxil cu grupe de protecție ortogonale (de exemplu, DMTrCl și TBSCl), urmată de eliminarea grupeii de protecție mai mobile în condiții acide (de exemplu, TsOH), rezultă cu compusul intermediar S16b. Prin reacția Appel (de exemplu, Ph₃P, CCl₄) se poate apoi transforma grupa hidroxil într-o clorură și eliminarea grupelor hidroxil de protecție (de exemplu, TBAF) și grupeii de azot de protecție (de exemplu, NH₄OH) conduce la formarea compușilor finali de tip S16c.



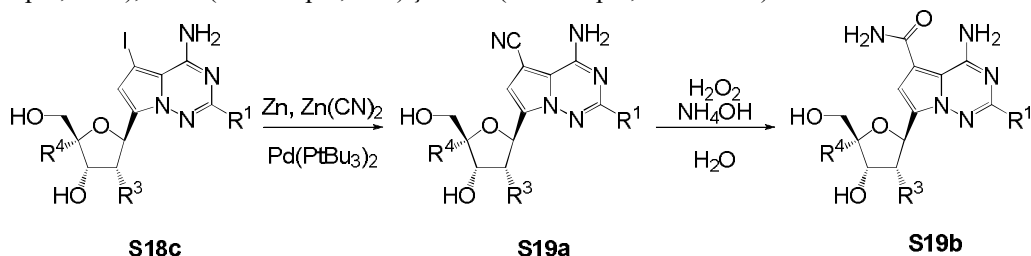
Schema 17

În schema 17 este prezentată sinteza generală a compușilor, începând cu protecția grupeii hidroxil libere din compusul intermediar S16b cu o grupă de protecție labilă (de exemplu, PMBCl, K₂CO₃). Eliminarea selectivă a grupelor de protecție siloxi 2', 3' și 5' (de exemplu, TBAF), cu protecția repetată ulterioară cu grupe de protecție stabile (de exemplu, BnBr, NaH) și eliminarea grupeii hidroxil de protecție labile în condiții acide (de exemplu, AcOH) rezultă cu compusul intermediar S17a. Conversia grupeii hidroxil în fluor (de exemplu, DAST), urmată de eliminarea grupelor hidroxil de protecție (de exemplu, BBr₃) și grupeii de azot de protecție (de exemplu, NH₄OH) conduce la formarea compușilor finali de tip S17b.



Schema 18

În schema 18 este prezentată sinteza generală a compușilor prin reacțiile de halogenare electrofilică corespunzătoare ale compusului intermediar S18a cu formarea compușilor finali de tipul S18b (de exemplu, NCS), S18c (de exemplu, NIS) și S18d (de exemplu, Selectfluor).

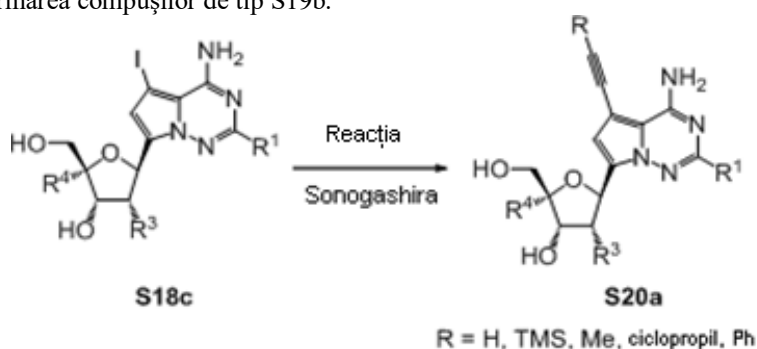


5

Schema 19

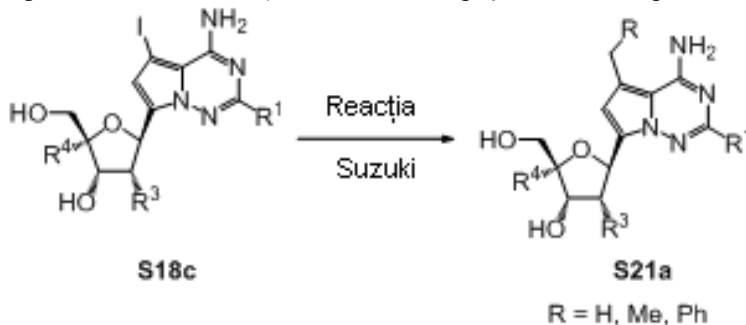
În schema 19 este prezentată sinteza generală a compușilor, începând cu o reacție de cuplare încrucișată (de exemplu, Zn(CN)₂, Pd(PtBu)₃) cu formarea compușilor finali de tipul S19a. Compusul S19a poate fi apoi sintetizat prin reacția de hidroliză a nitrilului (de exemplu, H₂O₂, NH₄OH, H₂O) cu formarea compușilor de tip S19b.

10



Schema 20

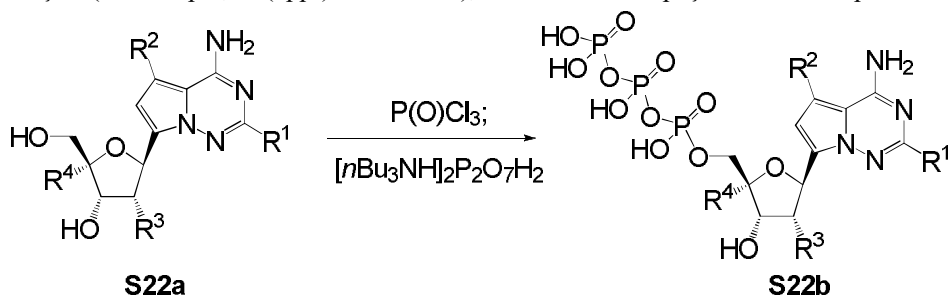
În schema 20 este prezentată sinteza generală a compușilor, începând cu reacția Sonogashira (de exemplu, CuI, PdCl₂(PPh₃)₂) cu formarea compușilor finali de tip S20a.



15

Schema 21

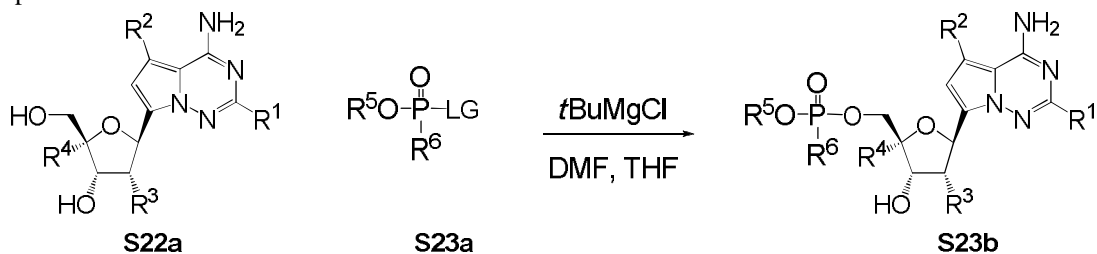
În schema 21 este prezentată sinteza generală a compușilor, începând cu o reacție de cuplare încrucișată (de exemplu, Pd(dppf)Cl₂, Cs₂CO₃) cu formarea compușilor finali de tip S21a.



20

Schema 22

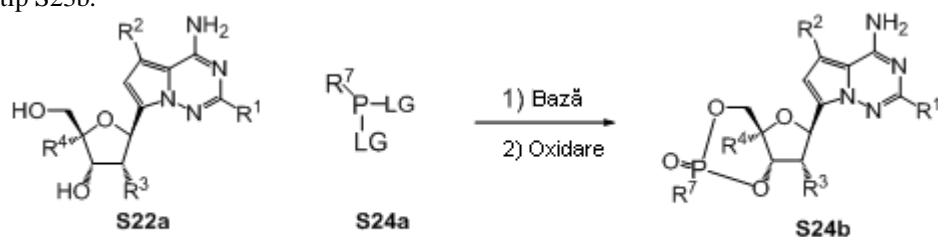
În schema 22 este prezentată sinteza generală a compușilor, incluzând sinteza analogilor fosforilați de tip S22b.



5

Schema 23

În schema 23 este prezentată sinteza generală a compușilor, incluzând sinteza analogilor fosforilați de tip S23b.

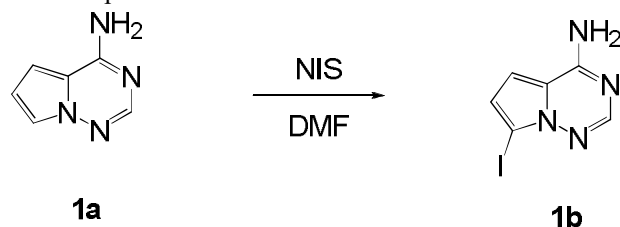


10

Schema 24

În schema 24 este prezentată sinteza generală a compușilor, incluzând sinteza analogilor fosforilați de tip S24b.

Partea experimentală



15

Compușul intermediar 1b.

Intr-o soluție de compus intermediar 1a (50 mg, 373 mmol) în DMF (1 ml) la temperatura camerei se introduce *N*-iodsuccinimidă (84 mg, 373 mmol) sub formă de substanță solidă. Peste 1,5 h amestecul de reacție se diluează cu soluție 1M NaOH (10 ml) și suspensia formată se agită la temperatura camerei. Peste 1 h substanțele solide se colectează prin filtrare în vid și se usucă sub presiune redusă, se obține compusul intermediar 1b.

20

^1H RMN (400 MHz, $\text{DSMO}-d_6$) δ 7,89 (s, 1H), 7,78 (br-s, 1H), 6,98 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 6,82 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 3,30 (br-s, 1H).

25

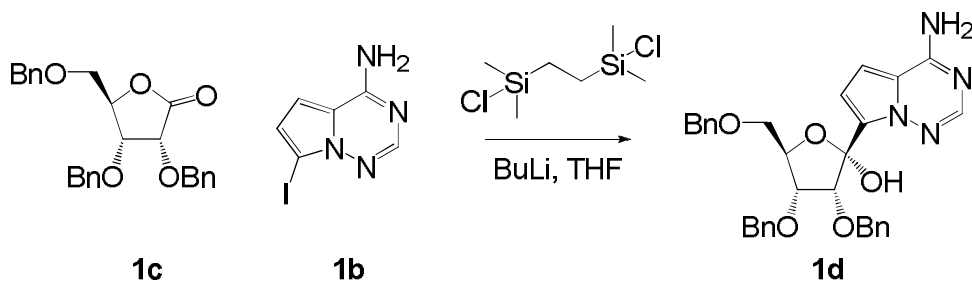
CL/SM: $t_R = 1,21$ min, SM $m/z = 261,02$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6 μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm

Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...2,0 min 2...100% ACN, 2,0 min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%...2% ACN, 3,2 min-3,5 min 2% ACN la 2 μ l/min.

30

CLIP: $t_R = 1,536$ min; sistemul CLÎP: serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5 μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.



Compusul intermediar 1d - (2S,3R,4R,5R)-2-(4-aminopirrol[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis(benziloxi)-5-(benziloximetil)tetrahidrofuran-2-ol

La o suspensie de 7-iodpirrol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-amină 1b (6,84 g, 26,3 mmol) și 1,2-bis(benziloximetil)etanol (5,66 g, 26,3 mmol) în THF (200 ml) la -78°C într-o atmosferă de argon se adaugă rapid *n*-butillitiu (2,5M în hexani, 34,4 ml, 86,0 mmol). În procesul adărierii temperatura internă a reacției se ridică până la $-40,5^{\circ}\text{C}$ și amestecul de reacție devine o soluție transparentă de culoare brună. Peste 15 min printr-o canulă rapid se adaugă o soluție de (3R,4R,5R)-3,4-bis(benziloxi)-5-(benziloximetil)dihidrofuran-2(3H)-onă (1c, achiziționată de la Carbosynth, 10 g, 23,9 mmol) în tetrahidrofuran (40 ml), răcită în prealabil până la -78°C . Peste 1 h amestecul de reacție se stinge cu acid acetic (15 ml) și amestecul format se lasă să se încălzească până la temperatura camerei. Amestecul format se diluează cu acetat de etil (800 ml) și se spală cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (500 ml) și soluție salină saturată (500 ml). Stratul organic se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează sub presiune redusă. Reziduu brut se purifică prin cromatografie pe coloană cu SiO_2 (coloană 220 g SiO_2 Combiflash HP Gold Column, 0...100% acetat de etil/hexani), se obține compusul intermediar 1d.

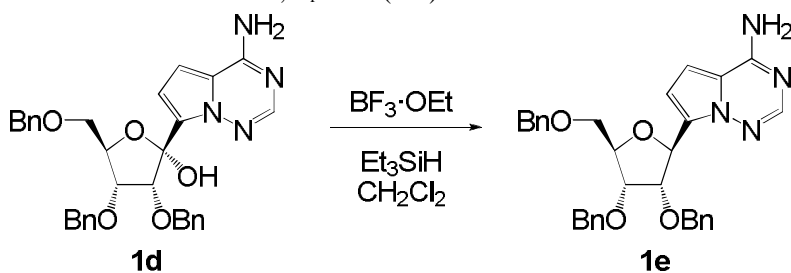
CL/SM: $t_{\text{R}} = 1,50$ min, SM $m/z = 553,34$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm

Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid acetic, Apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...1,5 min 2...100% ACN, 1,5 min...2,2 min 100% ACN, 2,2 min...2,4 min 100%...2% ACN, 2,4 min...2,5 min 2% ACN.

CLIP: $t_{\text{r}} = 3,442$ min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5 μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% TFA, Apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.

CSS: eluent: acetat de etil, $R_{\text{f}} = 0.5$ (UV)



Compusul intermediar 1e - 7-((2S,3S,4R,5R)-3,4-bis(benziloxi)-5-(benziloximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirrol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-amină

La o soluție de compus intermediar 1d (4,74 g, 8,58 mmol) și trietilsilan (3,56 ml, 22,3 mmol) în DCM (43 ml) se adaugă lent cu o seringă la 0°C într-o atmosferă de argon un complex de trifluorură de bor cu eter dietilic. Peste 2 h amestecul de reacție se diluează lent cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (100 ml) și amestecul format se extrage cu acetat de etil (2 x 150 ml), se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează sub presiune redusă. Reziduu brut se purifică prin cromatografie pe coloană cu SiO_2 (coloană 24 g SiO_2 Combiflash HP Gold Column, 0...100% acetat de etil/hexani), se obține compusul intermediar 1e.

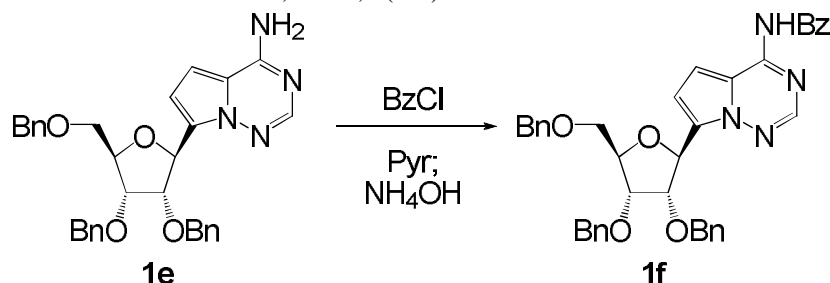
^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,88 (s, 1H), 7,37 ... 7,22 (m, 15H), 6,73 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 6,71 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 5,66 (d, $J = 4,2$ Hz, 1H), 4,71 (s, 2H), 4,60 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 4,54 (s, 2H), 4,45 (d, $J = 11,9$ Hz, 1H), 4,39 (dt, $J = 7,1; 3,6$ Hz, 1H), 4,25 (t, $J = 4,6$ Hz, 1H), 4,14 ... 4,10 (m, 1H), 3,78 (dd, $J = 10,7; 3,4$ Hz, 1H), 3,65 (dd, $J = 10,7, 4,0$ Hz, 1H).

CL/SM: $t_{\text{R}} = 2,01$ min, SM $m/z = 537,41$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6 μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...1,5 min 2...100% ACN, 1,5 min...2,2 min 100% ACN, 2,2 min...2,4 min 100%...2% ACN, 2,4 min...2,5 min 2% ACN la 2 μ l/min.

CLIP: $t_R = 3,596$ min; Sistemul CLIP: serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5 μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: Acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.

CSS: eluent: acetat de etil, $R_f = 0,3$ (UV)



Compusul intermediar 1f - N-(7-((2S,3S,4R,5R)-3,4-bis(benziloxi)-5-(benziloximetil)tetrahydrofuran-2-yl)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-yl)benzamidă

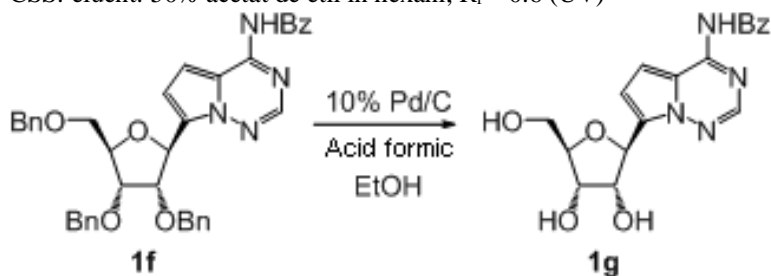
La o soluție de compus intermediar 1e (3,94 g, 7,34 mmol) în piridină (36,7 ml) se adaugă lent la temperatura camerei într-o atmosferă de argon clorură de benzoil (1,69 ml, 14,68 mmol). Peste 1 h se mai adaugă lent o cantitate suplimentară de clorură de benzoil (1,69 ml, 14,68 mmol). Peste 19 h se adaugă lent apă (20 ml) și amestecul de reacție devine puțin turbid. Apoi lent se adaugă hidroxid de amoniu (~10 ml) până când reacția devine alcalină cu pH=10. Peste 1 h se adaugă în picături printr-o pâlnie capilară apă (150 ml) și pe măsura adității din amestecul de reacție se sedimentează o substanță solidă albă. Amestecul format se agită timp de 24 h și substanțele solide de culoare albă se colectează prin filtrare în vid și se usucă prin distilare azeotropă din toluen, se obține compusul intermediar 1f.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8,23 (br s, 1H), 7,62 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,53 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H), 7,38...7,21 (m, 18H), 7,17 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 5,69 (d, $J = 4,1$ Hz, 1H), 4,71 (s, 2H), 4,63 - 4,44 (m, 4H), 4,43...4,39 (m, 1H), 4,22 (t, $J = 4,5$ Hz, 1H), 4,15...4,10 (m, 1H), 3,79 (dd, $J = 10,8; 3,2$ Hz, 1H), 3,65 (dd, $J = 10,7; 3,7$ Hz, 1H).

CL/SM: $t_R = 1,91$ min, SM $m/z = 641,18$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6 μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...1,5 min 2...100% ACN, 1,5 min...2,2 min 100% ACN, 2,2 min...2,4 min 100%...2% ACN, 2,4 min...2,5 min 2% ACN la 2 μ l/min.

CSS: eluent: 50% acetat de etil în hexani, $R_f = 0,6$ (UV)



Compusul intermediar 1g - N-(7-((2S,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahydrofuran-2-yl)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-yl)benzamidă

La un amestec de compus intermediar 1f (4,39 g, 6,85 mmol) și paladiu pe carbon (10% din greutate, 2,2 g) la temperatura camerei într-o atmosferă de argon se adaugă succesiv etanol (68,5 ml) și acid formic (51,7 ml, 1,37 mol). Peste 3 zile amestecul de reacție se filtrează printr-un strat de celite și filtratul se concentrează sub presiune redusă. Reziduu brut se distilează azeotrop cu toluen (3 x 20 ml), se obține compusul intermediar 1g, care se utilizează direct în etapa următoare fără purificare suplimentară.

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,15 (s, 1H), 7,67...7,40 (m, 5H), 7,23 (d, $J = 4,7$ Hz, 1H), 7,00 (d, $J = 4,7$ Hz, 1H), 5,40 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 4,44 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 4,17 (t, $J = 5,1$ Hz, 1H), 4,03 (q, $J = 4,3$ Hz, 1H), 3,81 (dd, $J = 12,1; 3,5$ Hz, 1H), 3,71 (dd, $J = 12,0; 4,5$ Hz, 1H).

CL/SM: $t_R = 1,04$ min, SM $m/z = 371,15$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

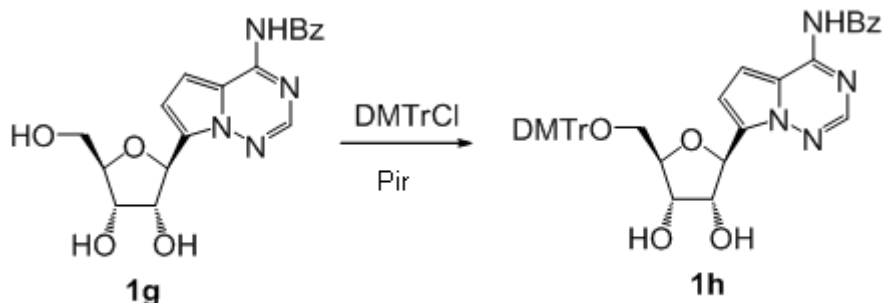
MD 4596 B1 2018.10.31

29

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm

Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...1,5 min 2...100% ACN, 1,5 min...2,2 min 100% ACN, 2,2 min...2,4 min 100%...2% ACN, 2,4 min...2,5 min 2% ACN la 2 μ l/min;

5 CLIP: $t_R = 2,055$ min; Sistemul CLÎP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5 μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: Acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.



10 Compusul intermediar 1h - N-(7-((2S,3R,4S,5R)-5-((bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi)metil)-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4] triazin-4-il)benzamidă

La o soluție de compus intermediar 1g (2,44 g, 6,59 mmol) în piridină (32,5 ml) la temperatura camerei într-o porție sub formă de substanță solidă se adaugă clorură de 4,4'-dimetoxitritil (2,23 g, 6,59 mmol). Peste 5,5 h amestecul de reacție se diluează cu acetat de etil (300 ml) și amestecul format se spală cu soluție salină saturată (3x200 ml). Stratul organic se concentrează sub presiune redusă și reziduul brut se purifică prin cromatografie pe coloană cu SiO₂ (coloană 80 g SiO₂ Combiflash HP Gold Column, 0...100% acetat de etil/hexani), se obține compusul intermediar 1h.

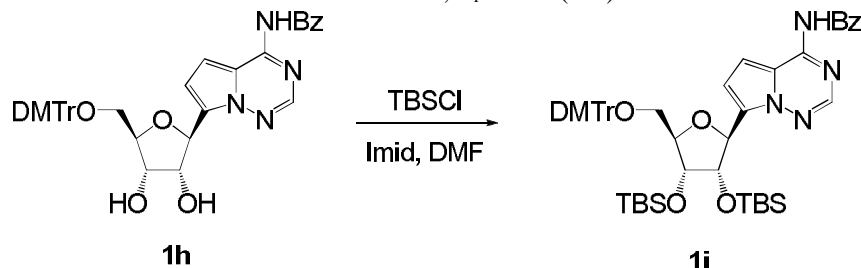
CL/SM: $t_R = 1,68$ min, SM $m/z = 673,22$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm;

20 Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...1,5 min 2...100% ACN, 1,5 min...2,2 min 100% ACN, 2,2 min...2,4 min 100%...2% ACN, 2,4 min...2,5 min 2% ACN la 2 μ l/min.

CLIP: $t_R = 4,270$ min; Sistemul CLÎP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5 μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: Acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.

25 CSS: eluent: 50% acetat de etil in hexani, $R_f = 0.15$ (UV)



30 Compusul intermediar 1i - N-(7-((2S,3S,4R,5R)-5-((bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi)metil)-3,4-bis(terț-butildimetilsililoxi)tetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

La o soluție de compus intermediar 1h (1,84 g, 2,74 mmol) și imidazol (2,23 g, 32,8 mmol) în *N,N*-dimetilformamidă (28,2 ml) la temperatura camerei se adaugă clorură de terț-butildimetilsilil (2,47 g, 16,4 mmol). Peste 17 h la amestecul de reacție lent se adaugă soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (500 ml). Amestecul format se extrage cu acetat de etil (500 ml) și stratul organic se spală cu soluție salină saturată (2x400 ml), se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează sub presiune redusă. Reziduul brut se purifică prin cromatografie pe coloană cu SiO₂ (coloană 80 g SiO₂ Combiflash HP Gold Column, 0...100% acetat de etil/hexani), se obține compusul intermediar 1i.

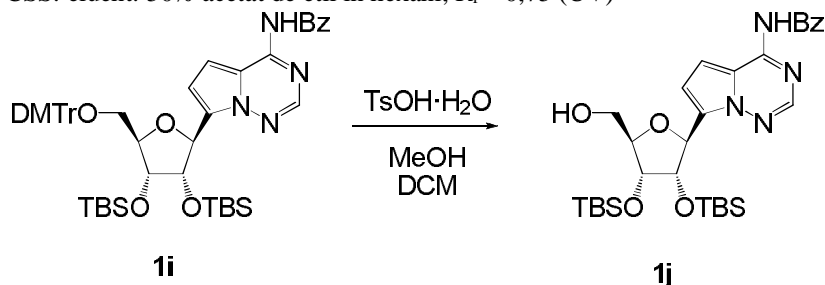
CL/SM: $t_R = 3,43$ min, SM $m/z = 901,37$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm

Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...2,0 min 2...100% ACN, 2,0 min...3,55 min 100% ACN, 3,55 min...4,2 min 100%...2% ACN la 2 μ l/min

CLIP: $t_R = 5,724$ min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5 μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.

CSS: eluent: 50% acetat de etil in hexani, $R_f = 0,75$ (UV)



5

Compusul intermediar 1j - N-(7-((2S,3S,4R,5R)-3,4-bis(terț-butildimetilsililoxi)-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

La o soluție de compus intermediar 1i (2,41 g, 2,67 mmol) in diclormetan (22,3 ml) la 0°C lent se adaugă o soluție de monohidrat de acid *p*-toluensulfonic (509 mg, 2,67 mmol) in metanol (3,7 ml). Peste 1,5 h amestecul de reacție se diluează cu soluție apoasă saturată de bicarbonat (100 ml) și amestecul format se extrage cu diclormetan (2x100 ml). Extractele organice combinate se usucă deasupra sulfatului de sodiu și se concentrează sub presiune redusă. Reziduul brut se purifică prin cromatografie pe coloană cu SiO₂ (coloană 120 g SiO₂ Combiflash HP Gold Column, 0...100% acetat de etil/hexani), se obține compusul intermediar 1j.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,72 (br-s, 1H), 8,16 (br-t, *J* = 7,1 Hz, 2H), 8,07 (br-t, *J* = 7,7 Hz, 3H), 7,49...7,43 (m, 1H), 5,75 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 5,28 (dd, *J* = 8,1; 4,7 Hz, 1H), 4,81 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H), 4,70...4,63 (m, 1H), 4,44 (d, *J* = 12,3 Hz, 1H), 4,24 (d, *J* = 12,4 Hz, 1H), 1,48 (s, 9H), 1,30 (s, 9H), 0,65 (s, 3H), 0,64 (s, 3H), 0,41 (s, 3H), 0,00 (s, 3H).

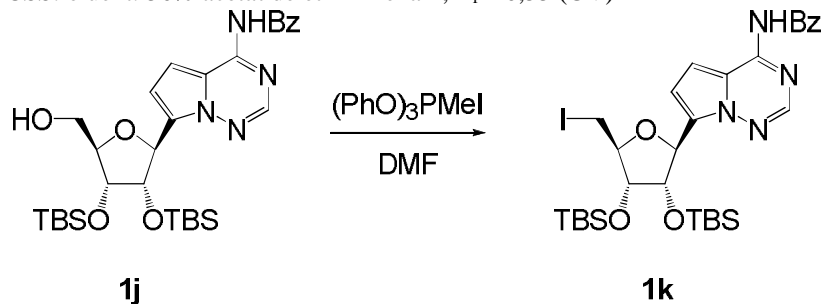
CL/SM: $t_R = 2,66$ min, SM $m/z = 599,19$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6 μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm

Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...2,0 min 2...100% ACN, 2,0 min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%...2% ACN, 3,2 min...3,5 min 2% ACN la 2 μ l/min.

CLIP: $t_R = 5,622$ min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5 μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: Acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.

CSS: eluent: 50% acetat de etil in hexani, $R_f = 0,55$ (UV)



Compusul intermediar 1k - N-(7-((2S,3S,4R,5S)-3,4-bis(terț-butildimetilsililoxi)-5-(iodometil)tetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

La o soluție de iodură de metiltrifenoxifosfoniu (0,99 g, 2,19 mmol) in DMF (9,9 ml) la temperatura camerei se adaugă compusul intermediar 1j (1,19 g, 1,99 mmol). Peste 3 h se adaugă o cantitate suplimentară de iodură de metiltrifenoxifosfoniu (0,99 g, 2,19 mmol). Peste 1 h amestecul de reacție se diluează cu acetat de etil (200 ml) și se spală cu soluție salină saturată (3x100 ml). Stratul organic se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează sub presiune redusă. Reziduul brut se purifică prin cromatografie pe coloană cu SiO₂ (coloană 80 g SiO₂ Combiflash HP Gold Column, 0...100% acetat de etil/hexani), se obține compusul intermediar 1k.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,21 (br s, 1H), 7,61 (br t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,53 (br t, *J* = 7,5 Hz, 3H), 7,05 (br s, 1H), 5,44 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 4,52 (t, *J* = 4,3 Hz, 1H), 4,08...3,99 (m, 2H), 3,55 (dd, *J* = 10,7; 5,2 Hz, 1H), 3,38 (dd, *J* = 10,7; 5,0 Hz, 1H), 0,93 (s, 9H), 0,85 (s, 9H), 0,16 (s, 3H), 0,11 (s, 3H), -0,01 (s, 3H), -0,11 (s, 1H).

40

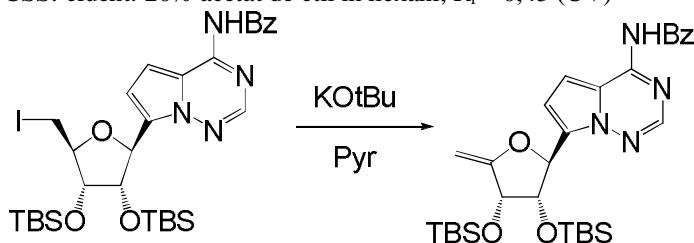
CL/SM: $t_R = 3,06$ min, SM $m/z = 709,16$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6 μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm

Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...2,0 min 2...100% ACN, 2,0 min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%...2% ACN, 3,2 min...3,5 min 2% ACN la 2 μ l/min.

CLIP: $t_R = 5,837$ min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5 μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: Acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.

CSS: eluent: 20% acetat de etil in hexani, $R_f = 0,45$ (UV)

**1k****1l**

10

Compusul intermediar 1l - N-(7-((2S,3S,4S)-3,4-bis(terț-butildimetilsililoxi)-5-metilentetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

La o soluție de compus intermediar 1k (1,77 g, 2,5 mmol) în piridină (25 ml) la temperatura camerei se adaugă *t*-butoxid de potasiu (700 mg, 6,24 mmol). Peste 2 h amestecul de reacție se diluează cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (25 ml) și soluție salină saturată (200 ml). Amestecul format se extrage cu acetat de etil (300 ml). Stratul organic se spală apoi cu soluție salină saturată (200 ml), se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează sub presiune redusă. Rezidul brut se purifică prin cromatografie pe coloană cu SiO₂ (coloană 40 g SiO₂ Combiflash HP Gold Column, 0–100% acetat de etil/hexani), se obține compusul intermediar 1l.

20

CL/SM: $t_R = 2,87$ min, SM $m/z = 581,37$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6 μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm

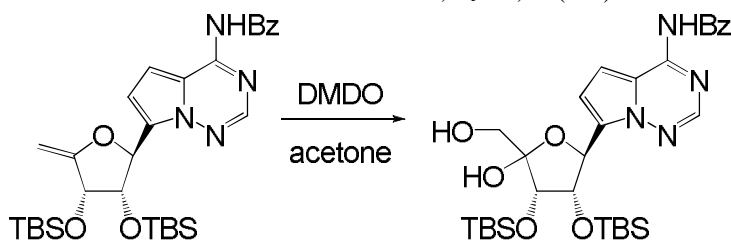
Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic

Gradient: 0 min...2,0 min 2...100% ACN, 2,0 min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%...2% ACN, 3,2 min...3,5 min 2% ACN la 2 μ l/min.

25

CLIP: $t_R = 5,750$ min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5 μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: Acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.

CSS: eluent: 50% acetat de etil in hexani, $R_f = 0,20$ (UV)

**1l****1m**

30

Compusul intermediar 1m - N-(7-((2S,3S,4S)-3,4-bis(terț-butildimetilsililoxi)-5-hidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

La o soluție de compus intermediar 1l (560 mg, 0,964 mmol) în acetonă (4,82 ml) la 0°C se adaugă DMDO (0,07M soluție în acetonă, 13,8 ml, 0,964 mmol). Peste 10 min amestecul de reacție se concentrează sub presiune redusă, se usucă prin distilare azeotropă cu toluen (2 x 1 ml), se obține 1m, care se utilizează imediat în etapa următoare fără purificare suplimentară.

35

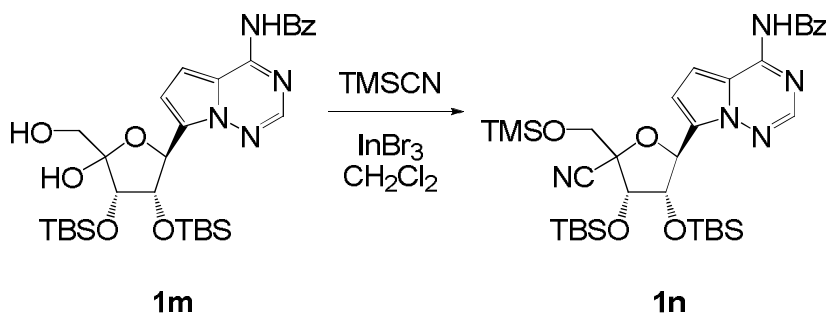
CL/SM: $t_R = 2,57$ min, SM $m/z = 615,14$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6 μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm

Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic

Gradient: 0 min...2,0 min 2...100% ACN, 2,0 min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%...2% ACN, 3,2 min...3,5 min 2% ACN la 2 μ l/min.

40



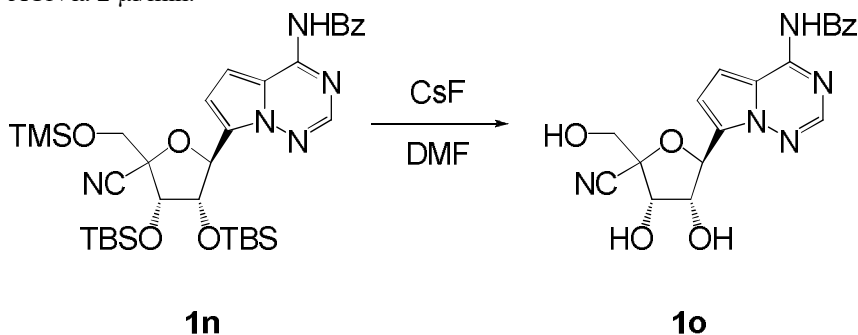
Compusul intermediar **1n** - N-(7-((2S,3S,4S)-3,4-bis(terț-butildimetilsiloxi)-5-cian-5-(trimetilsiloxi)metil)tetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

5 La o soluție de compus intermediar brut **1m** (~592 mg, ~0,964 mmol) și trimetilsilil cianură (640 μl, 4,80 mmol) în diclorometan (19,2 ml) se adaugă bromură de indiu (III) (681 mg, 1,92 mmol) la 0°C într-o atmosferă de argon. Peste 4,5 h amestecul de reacție se stinge cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (6 ml) și se lasă să se încălzească până la temperatura camerei. Amestecul format se distribuie între diclorometan (20 ml) și soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (20 ml). Fazele se separă și stratul apos se extrage cu diclorometan (20 ml). Straturile organice combinate se usucă deasupra sulfatului de sodiu și se concentrează sub presiune redusă, se obține compusul intermediar **1n** (amestec diastereomeric 1:1) (710 mg), care se utilizează direct în etapa următoare fără purificare suplimentară.

10 CL/SM: izomerul care eluează primul $t_R = 2,91$ min, SM $m/z = 696,28$ [M+1], izomerul secund de eluție $t_R = 3,02$ min, SM $m/z = 696,19$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm

15 Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...2,0 min 2...100% ACN, 2,0 min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%-2% ACN, 3,2 min...3,5 min 2% ACN la 2 μl/min.



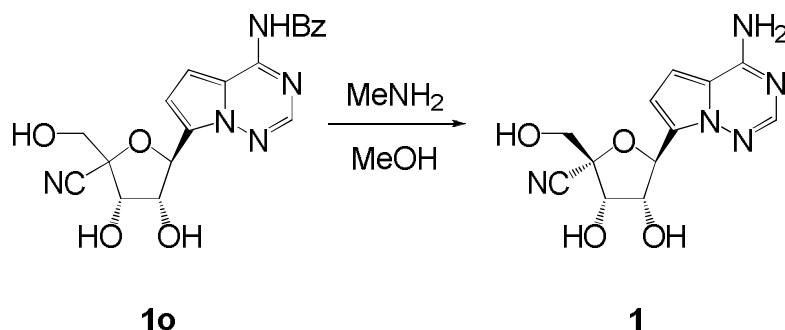
20 Compusul intermediar **1o** - N-(7-((2S,3R,4S)-5-cian-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

25 La o soluție de compus intermediar brut **1n** (668,23 mg, 0,96 mmol) în DMF (9,6 ml) se adaugă fluorură de cesiu (729 mg, 4,8 mmol) la temperatura camerei. Peste 5 h amestecul de reacție se diluează cu soluție salină saturată (100 ml) și amestecul format se extrage cu diclorometan (3 x 100 ml). Straturile organice combinate se usucă deasupra sulfatului de sodiu și se concentrează sub presiune redusă, se obține compusul intermediar **1o** (amestec diastereomeric 1:1), care se utilizează direct în etapa următoare fără purificare suplimentară.

30 CL/SM: izomerul din prima eluție $t_R = 1,31$ min, SM $m/z = 396,19$ [M+1], izomerul din eluție secundă $t_R = 1,32$ min, SM $m/z = 396,19$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm

Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...2,0 min 2...100% ACN, 2,0 min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%...2% ACN, 3,2 min...3,5 min 2% ACN la 2 μl/min.



Exemplul 1 - (2R,3S,4R,5S)-5-(4-aminopirolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-carbonitril

La o soluție de compus intermediar brut 1o în metanol (1 ml) la temperatura camerei se adaugă metilamină (40% în apă, 0,3 ml). Peste 2,5 h amestecul de reacție se concentrează sub presiune redusă și se purifică direct prin CLÎP preparativă (Phenominex Luna 5 μ C18 100Å, Coloană 100x30 mm, gradient 5...15% acetonitril/apă, 25 min). Frațiunile cu conținut de produs dezirabil și anomerul 4' se combină și se concentrează sub presiune redusă. Anomerii 4' se separă prin CLÎP preparativă (Phenominex Luna 5 μ C18 100Å, Coloană 100x30 mm, gradient 5...15% acetonitril/apă, 25 min). Frațiunile cu conținut de produs dezirabil se combină și se liofilizează, se obține exemplul 1.

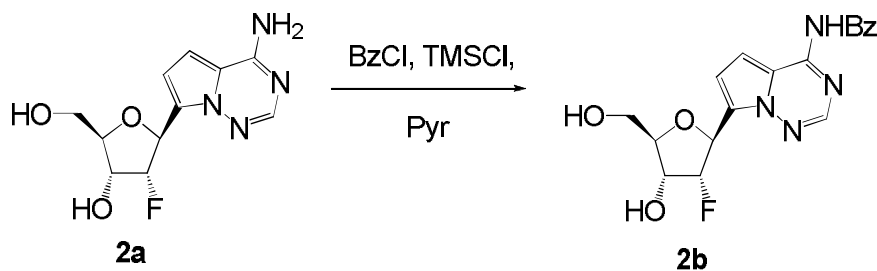
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,79 (s, 1H), 6,85 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 6,76 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 5,45 (d, $J = 5,9$ Hz, 1H), 4,59 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 4,40 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 3,88 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 3,80 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H).

CL/SM: $t_{\text{R}} = 0,29$ min, SM $m/z = 292,16$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6 μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm

Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...1,5 min 2...100% ACN, 1,5 min...2,2 min 100% ACN, 2,2 min...2,4 min 100%...2% ACN, 2,4 min...2,5 min 2% ACN la 2 $\mu\text{l}/\text{min}$.

CLIP: $t_{\text{R}} = 0,377$ min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5 μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.; CLIP: $t_{\text{R}} = 6,643$ min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100; Coloană: Luna 5 μ C18(2) 110Å, 250 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril, apă; Gradient: 5...15% ACN timp de 10 min la 2 ml/min



25 Compusul intermediar 2b - N-(7-((2S,3R,4R,5R)-3-fluor-4-hidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirolo[1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

Intr-un balon purjat cu N_2 se adaugă compusul intermediar 2a, (2R,3R,4R,5S)-5-(4-aminopirolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluor-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ol (preparat, conform [12], 1,20 g, 4,01 mmol) (uscat prin coevaporare cu piridină de 3 ori), apoi se dizolvă în piridină (18 ml). La 0°C într-o porție se adaugă clortrimetilsilan (1,54 ml, 13,13 mmol) și amestecul format se agită într-o atmosferă de N_2 timp de 1 h. Se adaugă în picături clorură de benzoil (675 μl , 5,82 mmol) și amestecul de reacție se agită timp de 1h. Pentru consumul materialului inițial restant se adaugă o cantitate suplimentară de clorură de benzoil (100 μl). Se observă un amestec de mono- și bis-Bz produse protejate. Reacția se stinge cu H_2O (5 ml) și amestecul format se agită timp de 5 min. Apoi se adaugă într-o porție $\text{NH}_4\text{OH}_{(\text{ap})}$ concentrat (8 ml) și se lasă să se agite timp de 15 min, timp în care produsul bis-Bz se transformă în produs dezirabil. Solvenți se elimină sub presiune redusă și apoi reziduul se coevaporează cu CH_3OH . Compusul intermediar 2b se izolează după purificare prin cromatografie pe silica gel, utilizând gradientul eluenților 50%...100% EtOAc în hexani.

^1H RMN (400 MHz, $\text{DSMO}-d_6$) δ 8,26...7,91 (m, 2H), 7,88...7,79 (m, 1H), 7,61 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,56...7,36 (m, 2H), 7,37...7,24 (m, 1H), 7,10 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 7,01 (s, 1H), 5,53 (d, $J = 23,4$ Hz, 1H), 5,45 (d, $J = 6,5$ Hz, 1H), 5,16...4,91 (m, 1H), 4,86 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,21...4,04 (m, 1H), 3,82 (dd, $J = 8,0; 3,9$ Hz, 1H), 3,71 (ddd, $J = 12,3; 5,6; 2,6$ Hz, 1H), 3,52 (ddd, $J = 12,2; 5,7; 4,5$ Hz, 1H).

5 ^{19}F RMN (376 MHz, $\text{DSMO}-d_6$) δ -196,33 (dt, $J = 55,1; 22,5$ Hz).

CL/SM: $t_R = 0,77$ min, SM $m/z = 373,14$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm

Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic

10 Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN.



Compusul intermediar 2c - N-(7-((2S,3R,4R,5R)-5-((bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi)metil)-3-fluor-4-hidroxitetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

15 Compusul intermediar 2b (1,3 g, 3,49 mmol) se usucă prin coevaporare cu piridină. Materialul uscat se dizolvă apoi în piridină (15 ml) într-o atmosferă de N_2 . Într-o porție la temperatura camerei se adaugă clorură de 4,4'-dimetoxitritil (1,71 g, 5,0 mmol) și se lasă să se agite timp de 2 h. Se adaugă etanol (2 ml) și soluția formată se agită timp de 5 min. Solvenții se elimină sub presiune redusă. Reziuul se purifică prin cromatografie pe silica gel, utilizând gradientul eluenților 0%...100% EtOAc în hexani, se obține compusul intermediar 2c.

20 ^1H RMN (400 MHz, $\text{DSMO}-d_6$) δ 8,28...8,02 (m, 2H), 7,61 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,51 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H), 7,36 (ddt, $J = 6,0; 4,7; 2,0$ Hz, 2H), 7,31...7,04 (m, 7H), 6,90...6,73 (m, 4H), 5,62 (d, $J = 24,4$ Hz, 1H), 5,49 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 5,27...5,01 (m, 1H), 4,32...4,13 (m, 1H), 4,06...3,95 (m, 1H), 3,69 (s, 4H), 3,28 (s, 3H), 3,12 (dd, $J = 10,4; 5,2$ Hz, 1H).

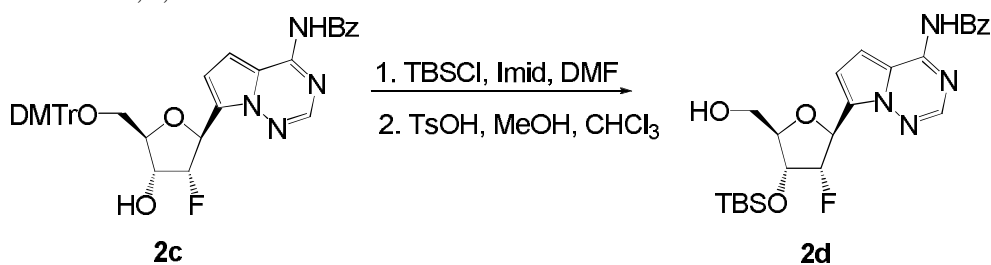
25 ^{19}F RMN (376 MHz, $\text{DSMO}-d_6$) δ -195,58 (dt, $J = 52,1; 24,7$ Hz).

CL/SM: $t_R = 1,37$ min, SM $m/z = 675,29$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm

Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic

Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN.



30 Compusul intermediar 2d - N-(7-((2S,3S,4R,5R)-4-(terț-butildimetilsiloxi)-3-fluor-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

35 La o soluție de compus intermediar 2c (1,47 g, 2,18 mmol) în DMF (8 ml), preparată într-o atmosferă de N_2 , se adaugă imidazol (251 mg, 3,70 mmol), apoi *terț*-butilclordimetilsilan (492 mg, 3,27 mmol). Soluția se lasă să se agite la temperatura camerei timp de 16 h. Soluția se diluează cu H_2O (5 ml) și apoi solvenții se elimină sub presiune redusă. Reziuul se distribuie între EtOAc și H_2O . Straturile se separă și faza organică se spală apoi cu soluție salină saturată. Produsele organice se usucă deasupra Na_2SO_4 , care se elimină prin filtrare și filtratul se concentrează sub presiune redusă. Materialul brut se utilizează în următoarea etapă.

40 Materialul brut se dizolvă în CHCl_3 (15 ml) și se răcește până la 0°C . La amestec se adaugă în picături hidratul acidului *p*-toluensulfonic (414 mg, 2,18 mmol), dizolvat în CH_3OH (6 ml) și se lasă să

se agite timp de 15 min. Amestecul de reacție se stinge cu $\text{NaHCO}_3(\text{ap})$ saturat. Produsele organice se spală cu soluție salină saturată și se usucă deasupra Na_2SO_4 , se filtrează și solventul se elimină sub presiune redusă. The reziduu se purifică cromatografie pe silica gel, utilizând gradientul eluenților 0%...50% EtOAc in hexani, se obține compusul intermediar 2d.

5 ^1H RMN (400 MHz, $\text{DSMO}-d_6$) δ 8,21...7,98 (m, 2H), 7,51 (dt, $J = 39,9$; 7,5 Hz, 3H), 7,12...6,86 (m, 2H), 5,48 (d, $J = 21,9$ Hz, 1H), 5,07 (dt, $J = 54,6$; 3,8 Hz, 1H), 4,86 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H), 4,28 (ddd, $J = 17,8$; 7,1; 4,4 Hz, 1H), 3,83...3,72 (m, 1H), 3,63 (ddd, $J = 12,1$; 5,2; 3,0 Hz, 1H), 3,43 (ddd, $J = 12,1$; 6,0; 4,2 Hz, 1H), 0,80 (s, 9H), 0,01 (s, 3H), 0,00 (s, 3H).

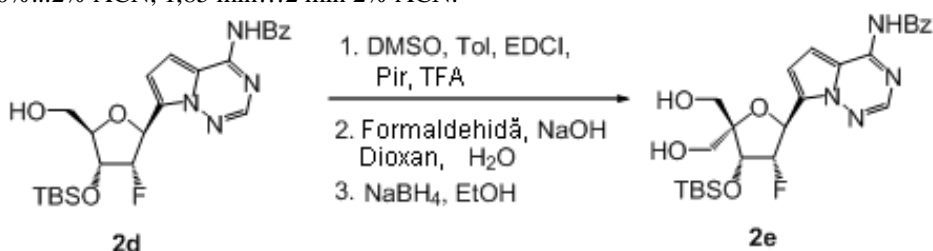
^{19}F RMN (376 MHz, $\text{DSMO}-d_6$) δ -198,05 (dt, $J = 54,2$; 19,8 Hz).

10 CL/SM: $t_R = 1,35$ min, SM $m/z = 487,24$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6 μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm

Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic

Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN.



15

Compusul intermediar 2e - N-(7-((2S,3S,4R)-4-(terț-butildimetilsililoxi)-3-fluor-5,5-bis(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

La soluția de compus intermediar 2d (856 mg, 1,75 mmol) în toluen (4 ml) și DSMO (6 ml), preparată într-o atmosferă de N_2 , se adaugă hidroclorură de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimidă (EDCI) (504 mg, 2,63 mmol). La acest amestec se adaugă piridină (150 μl) și TFA (70 μl) și amestecul se agită la temperatura camerei timp de 15 min. Se adaugă o cantitate suplimentară de EDCI (100 mg) și piridină (100 μl) și amestecul se agită timp de încă 45 min. Amestecul de reacție se stinge cu H_2O (10 ml) și CH_2Cl_2 (10 ml). Produsele organice se spală cu soluție salină saturată și se usucă deasupra Na_2SO_4 , se filtrează și solvent se elimină sub presiune redusă, se obține aldehida brută, care se utilizează în etapa următoare.

25

Aldehida brută se dizolvă în dioxan (5 ml) și se adaugă 37% formaldehidă_(ap) (925 μl), apoi 2N $\text{NaOH}_{(\text{ap})}$ (925 μl). După agitare la temperatura camerei timp de 3 h, amestecul de reacție se stinge cu AcOH, se diluează cu EtOAc și se spală cu H_2O . Produsele organice se usucă deasupra Na_2SO_4 , se filtrează și solventul se elimină sub presiune redusă, se obține produsul de aldol brut, care se utilizează în etapa următoare.

30

Intr-o atmosferă de N_2 produsul de aldol brut se dizolvă în EtOH (9 ml) și se răcește până la 0°C . Intr-o porție se adaugă NaBH_4 (80 mg, 2,1 mmol) și amestecul de reacție se agită timp de 10 min. Amestecul de reacție se stinge cu AcOH, se diluează cu CH_2Cl_2 și se spală cu soluție 1:1 de apă și $\text{NaHCO}_3(\text{ap})$ saturat. Faza organic se usucă deasupra Na_2SO_4 , se filtrează și solventul se elimină sub presiune redusă. Reziduu se purifică prin cromatografie pe silica gel, utilizând gradientul eluenților 0%-100% EtOAc in hexani, se obține compusul intermediar 2e.

35

^1H RMN (400 MHz, $\text{DSMO}-d_6$) δ 8,20...7,99 (m, 2H), 7,51 (dt, $J = 39,5$; 7,5 Hz, 3H), 7,15...6,93 (m, 2H), 5,50 (d, $J = 14,1$ Hz, 1H), 5,24 (dt, $J = 54,2$; 5,4 Hz, 1H), 4,78 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,48 (dd, $J = 10,7$; 4,8 Hz, 1H), 4,34 (dd, $J = 6,7$; 4,9 Hz, 1H), 3,62 (dd, $J = 11,9$; 4,9 Hz, 1H), 3,55...3,35 (m, 3H), 0,82 (s, 9H), 0,07 (s, 3H), -0,09 (s, 3H).

40

^{19}F RMN (376 MHz, $\text{DSMO}-d_6$) δ -200,37 (d, $J = 51,1$ Hz).

CL/SM: $t_R = 1,25$ min, SM $m/z = 517,21$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6 μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm

Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic

45

Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN.



Compusul intermediar 2f - N-(7-((2S,3S,4R,5R)-5-((bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi)metil)-4-(terț-butildimetilsililoxi)-5-((terț-butildimetilsililoxi)metil)-3-fluortetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

Compusul intermediar 2e (370 mg, 0,717 mmol) se dizolvă în CH_2Cl_2 (10 ml) și TEA (200 μl) sub o atmosferă de N_2 și apoi se răcește până la 0°C . Într-o porție se adaugă clorură de 4,4'-dimetoxitritil (0,364g, 1,07mmol) și amestecul de reacție se lasă să se agite timp de 30 min. Se adaugă CH_3OH (2 ml) și soluția se diluează cu CH_2Cl_2 și $\text{NaHCO}_3(\text{ap})$ saturat. Stratul organic se spală cu soluție salină saturată, se usucă deasupra Na_2SO_4 , se filtrează și solvenții se elimină sub presiune redusă. Reziduul se purifică prin cromatografie pe silica gel, utilizând gradientul eluenților 5%...100% EtOAc în hexani, se obține produsul brut sub formă de amestec de produse bis-DMTr și 4' β . Acest amestec se utilizează ulterior fără purificare suplimentară.

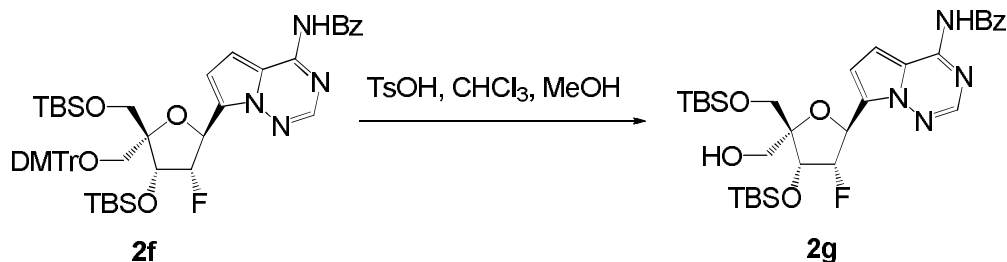
Într-o atmosferă de N_2 la produsul brut (574 mg, amestec) în DMF (3 ml) se adaugă imidazol (143 mg, 2,10 mmol), apoi terț-butilclordimetilsilan (158 mg, 1,05 mmol). Soluția se lasă să se agite la temperatura camerei timp de 2 h. Soluția se diluează cu CH_3OH (1 ml) și EtOAc. Produsele organice se spală cu H_2O și apoi cu soluție salină saturată. stratul organic se usucă deasupra Na_2SO_4 , se filtrează și solvenții se elimină sub presiune redusă. Reziduul se purifică prin cromatografie pe silica gel, utilizând gradientul eluenților 0%...50% EtOAc în hexani, se obține compusul intermediar 2f, care conține puțin material bis-DMTr.

CL/SM: $t_R = 2,25$ min, SM $m/z = 933,52$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ C18 100A, 50 x 3,00 mm

Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic

Gradient: 0 min...1,5 min 2...100% ACN, 1,5 min...2,8 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3 min 2% ACN.



Compusul intermediar 2g - N-(7-((2S,3S,4R,5R)-4-(terț-butildimetilsililoxi)-5-((terț-butildimetilsililoxi)metil)-3-fluor-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

Compusul intermediar 2f se dizolvă în CHCl_3 (5 ml) și se răcește până la 0°C . La amestec se adaugă în picături hidratul acidului *p*-toluensulfonic (90 mg, 0,474 mmol), dizolvat în CH_3OH (4 ml) și amestecul de reacție se lasă să se agite timp de 5 min. Amestecul de reacție se stinge cu $\text{NaHCO}_3(\text{ap})$ saturat. Produsele organice se spală cu soluție salină saturată, se usucă deasupra Na_2SO_4 , se filtrează și solvenții se elimină sub presiune redusă. Reziduul se purifică prin cromatografie pe silica gel, utilizând gradientul eluenților 0%...40% EtOAc în hexani, se obține compusul intermediar 2g.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8,09...7,88 (m, 2H), 7,48 (dt, $J = 35,4$; 7,4 Hz, 3H), 7,30 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 6,88 (s, 1H), 5,69 (dd, $J = 18,8$; 4,2 Hz, 1H), 5,05 (dt, $J = 54,6$; 4,7 Hz, 1H), 4,62 (dd, $J = 14,9$; 5,1 Hz, 1H), 3,91...3,64 (m, 3H), 0,92...0,70 (m, 18H), 0,13...0,04 (m, 6H), 0,01 (m, 6H).

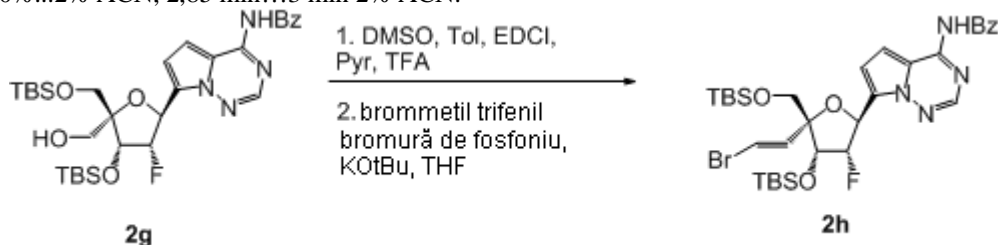
^{19}F RMN (376 MHz, CDCl_3) δ -196 (m)

CL/SM: $t_R = 2,61$ min, SM $m/z = 631,43$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm

Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid formic, Apă cu 0,1% acid formic

Gradient: 0 min...1,5 min 2...100% ACN, 1,5 min...2,8 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3 min 2% ACN.



5 Compusul intermediar 2h - N-(7-((2S,3S,4R,5R)-5-((E)-2-bromvinil)-4-(terț-butildimetilsililoxi)-5-((terț-butildimetilsililoxi)metil)-3-fluortetrahidrofuran-2-il)pirol [1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

La soluția de compus intermediar 2g (228 mg, 0,361 mmol) în toluen (0,75 ml) și DMSO (0,15 ml) se adaugă hidroclorură de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimidă (EDCI) (208 mg, 1,08 mmol) într-o atmosferă de N₂. La acest amestec se adaugă piridină (30 μl) și TFA (15 μl) și amestecul se agită la temperatura camerei timp de 30 min. Amestecul de reacție se diluează cu EtOAc și se spală cu H₂O, apoi cu soluție salină saturată. Produsele organice se usucă deasupra Na₂SO₄, se filtrează și solventul se elimină sub presiune redusă, se obține aldehydă brută. Acest material se utilizează în etapa următoare.

10 La o suspensie de bromură de brometiltrifenilfosfoniu (314 mg, 0,72 mmol) în THF (4 ml) la -40°C se adaugă KOtBu (1,0M în THF, 1,08 ml, 1,08 mmol) și amestecul de reacție se agită timp de 2 h într-o atmosferă de N₂. Aldehyda brută se dizolvă în THF (4 ml) și se adaugă în picături. Amestecul de reacție se înlătură de pe baia rece și se lasă să se încălzească până la 10°C timp de 1 h. Amestecul de reacție se răcește iarăși până la -40°C și amestecul de reacție se stinge cu NH₄Cl_(ap) saturată. Straturile se separă și produsele organice se usucă deasupra Na₂SO₄, se filtrează și solventul se elimină sub presiune redusă. Reziduul se purifică prin cromatografie pe silica gel, utilizând eluentul din 0%...50% EtOAc în hexani, se obține compusul intermediar 2h.

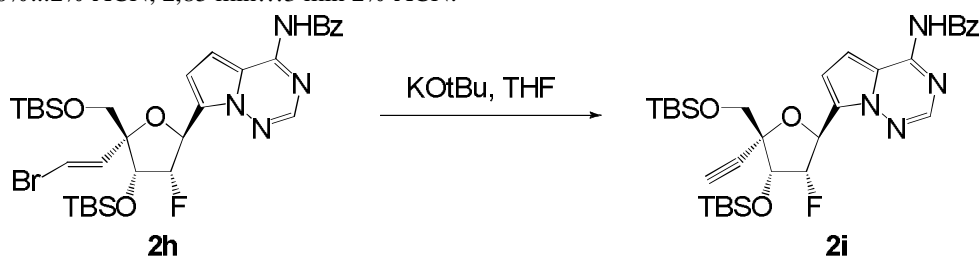
20 ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,08...7,85 (m, 2H), 7,62...7,36 (m, 2H), 7,34...7,01 (m, 3H), 6,92 (s, 1H), 6,60...6,45 (m, 1H), 6,35 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 5,61 (d, J = 25,1 Hz, 1H), 4,82 (dd, J = 56,3; 4,9 Hz, 1H), 4,69...4,46 (m, 1H), 3,97 (d, J = 11,4 Hz, 1H), 3,53 (d, J = 11,4 Hz, 1H), 0,84 (d, J = 3,9 Hz, 18H), 0,13...0,10 (m, 12H).

¹⁹F RMN (376 MHz, CDCl₃) δ -190,60 (m).

25 CL/SM: t_R = 2,10 min, SM m/z = 705,54/707,29 [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm

Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic

Gradient: 0 min...1,5 min 2...100% ACN, 1,5 min...2,8 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3 min 2% ACN.



30 Compusul intermediar 2i - N-(7-((2S,3S,4R,5R)-4-(terț-butildimetilsililoxi)-5-((terț-butildimetilsililoxi)metil)-5-etinil-3-fluortetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4] triazin-4-il)benzamidă

Compusul intermediar 2h (204 mg, 0,289 mmol) într-o atmosferă de N₂ se dizolvă în THF (8 ml) și se răcește până la -40°C. Lent se adaugă KOtBu (1,0M în THF, 1,08 ml, 1,08 mmol). Amestecul de reacție se lasă să se agite timp de 20 min și se stinge cu NH₄Cl_(ap) saturată. Soluția se diluează cu EtOAc și se spală cu soluție salină saturată. Produsele organice se usucă deasupra Na₂SO₄, se filtrează și solventul se elimină sub presiune redusă. Reziduul se purifică prin cromatografie pe silica gel, utilizând gradientul eluenților 0%...50% EtOAc în hexani, se obține compusul intermediar 2i.

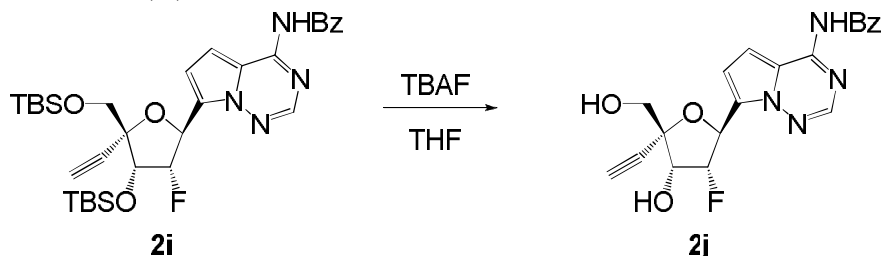
40 ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,12...7,88 (m, 2H), 7,51 (dt, J = 36,5; 7,5 Hz, 2H), 7,32 (d, J = 4,6 Hz, 1H), 6,88 (s, 1H), 5,79 (d, J = 22,1 Hz, 1H), 5,02 (ddd, J = 55,3; 5,1; 3,2 Hz, 1H), 4,56 (dd, J = 18,1; 5,1 Hz, 1H), 3,91 (d, J = 11,3 Hz, 1H), 3,83...3,62 (m, 1H), 2,55 (m, 1H), 0,90 (dd, J = 25,3; 1,6 Hz, 18H), 0,20 ... -0,08 (m, 12H).

¹⁹F RMN (376 MHz, CDCl₃) δ -193,10 (lat-s).

MD 4596 B1 2018.10.31

38

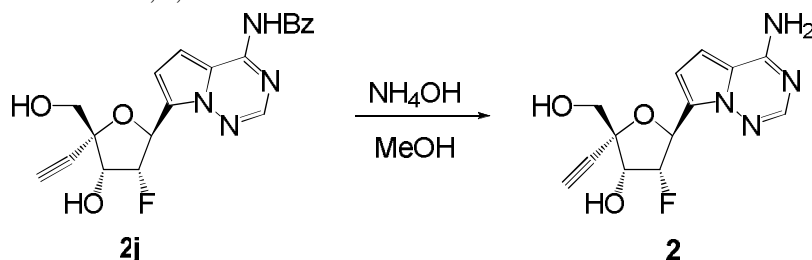
CL/SM: $t_R = 1.88$ min, SM $m/z = 625,24$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP
 Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6 μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm
 Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic
 Gradient: 0 min...1,5 min 2...100% ACN, 1,5 min...2,8 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min
 5 100%...2% ACN, 2,85 min...3 min 2% ACN.



Compusul intermediar 2j - N-(7-((2S,3R,4R,5R)-5-etinil-3-fluor-4-hidroxi-5-(hidroximetil)tetrahydrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

La o soluție de compus intermediar 2i (152 mg, 0,243 mmol) în THF (3,5 ml) într-o atmosferă de N₂ la temperatura camerei se adaugă TBAF (1,0M în THF, 700 μ l, 0,700 mmol) și amestecul se lasă să se agite timp de 30 min. Solvenții se elimină sub presiune redusă. Reziduul se purifică prin cromatografie pe silica gel, utilizând gradientul eluenților 40%...100% EtOAc în hexani, se obține compusul intermediar 2j.

CL/SM: $t_R = 0,88$ min, SM $m/z = 397,16$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP
 Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm
 Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic
 Gradient: 0 min...1,5 min 2...100% ACN, 1,5 min...2,8 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min
 15 100%...2% ACN, 2,85 min...3 min 2% ACN.



Exemplul 2 - (2R,3R,4R,5S)-5-(4-aminopirol[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-etinil-4-fluor-2-(hidroximetil)tetrahydrofuran-3-ol

La o soluție de compus intermediar 2j (71 mg, 0,179 mmol) în CH₃OH (2 ml) se adaugă NH₄OH_(ap) concentrat (0,7 ml) și soluția formată se agită la temperatura camerei timp de 16 h. Solvenții se elimină sub presiune redusă. Reziduul se purifică prin cromatografie pe silica gel, utilizând gradientul eluenților 0%...20% CH₃OH în CH₂Cl₂, apoi prin CLÎP cu fază inversă, utilizând gradientul eluenților 0%...20% ACN în H₂O, se obține compusul din exemplul 2.

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,77 (s, 1H), 6,90...6,70 (m, 2H), 5,62 (dd, $J = 25,5; 2,6$ Hz, 1H), 5,18 (ddd, $J = 56,0; 5,4; 2,7$ Hz, 1H), 4,57 (dd, $J = 20,5; 5,4$ Hz, 1H), 3,93...3,59 (m, 2H), 3,02 (d, $J = 0,7$ Hz, 1H).

¹⁹F RMN (376 MHz, CD₃OD) δ -193,76 (ddd, $J = 56,0; 25,5; 20,4$ Hz).

CL/SM: $t_R = 0,45$ min, SM $m/z = 293,13$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP
 Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6 μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm
 Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic
 Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min
 35 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN.

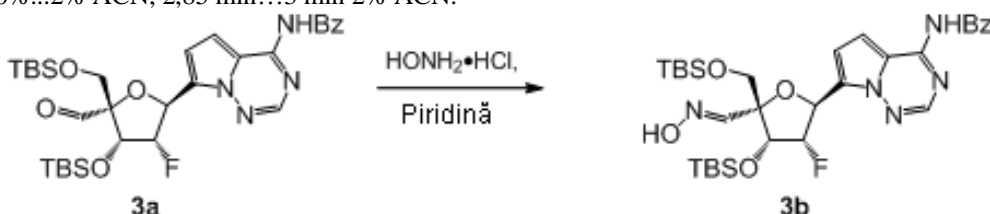
CLIP: $t_R = 3,112$ min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100
 Coloană: Phenomenex Kinetex C18 2,6 μ m 100Å, 4,6 x 100 mm
 Solvenți: Acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA
 Gradient: 0 min...8,0 min 2...98% ACN la 1,5 ml/min.



Compusul intermediar 3a - N-(7-((2S,3S,4R,5R)-4-(terț-butildimetilsiloxi)-5-((terț-butildimetilsiloxi)metil)-3-fluor-5-formiltetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

La o soluție de compus intermediar 2g (1,13 g, 1,79 mmol) în DMSO (1 ml) și toluen (10 ml), preparată într-o atmosferă de N₂, se adaugă EDCI·HCl (1,02 g, 5,36 mmol) și piridină (149 μl, 1,92 mmol). Se adaugă în picături TFA (74 μl, 0,97 mmol). Peste 1 h amestecul de reacție se verifică prin CL/SM. Se observă un singur vârf cu timpul de retenție similar materialelor inițiale, dar cu vârful M+1 egal cu cel așteptat al produsului. Se adaugă încă 50 μl de piridină și amestecul de reacție se agită timp de încă 15 min. În datele CL/SM nu se remarcă modificări. Amestecul de reacție se diluează cu EtOAc și se stinge cu amestec 1:1 de NaHCO_{3(ap.)} saturat și H₂O. Amestecul se distribuie între EtOAc și încă H₂O. Stratul organic se separă și se spală cu H₂O, soluție salină saturată și apoi se usucă deasupra Na₂SO₄. Agentul de uscare se elimină prin filtrare în vid și filtratul se concentrează. Reziduul se tratează cu CH₂Cl₂, se concentrează și materialul rezultat se plasează sub vid înalt pentru 1 h. Produsul, compusul intermediar 3a, se utilizează în reacția următoare.

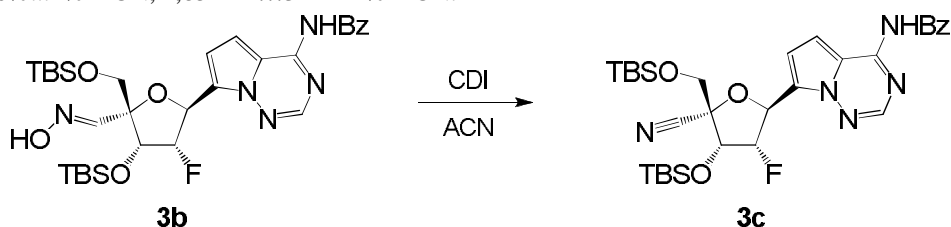
CL/SM: t_R = 1,90 min, SM m/z = 629,46 [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP
Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm
Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic
Gradient: 0 min...1,5 min 2...100% ACN, 1,5 min...2,8 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3 min 2% ACN.



Compusul intermediar 3b - N-(7-((2S,3S,4R,5R)-4-(terț-butildimetilsiloxi)-5-((terț-butildimetilsiloxi)metil)-3-fluor-5-((E)-(hidroxiimino)metil)tetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

La o soluție de compus intermediar 3a (produsul brut din etapa precedentă, 1,79 mmol presupuse) în piridină (11 ml), preparată într-o atmosferă de N₂, într-o porție la temperatura camerei se adaugă HONH₂·HCl. Peste 5 min amestecul de reacție se verifică prin CL/SM; se confirmă consumarea substanței inițiale. Reacția se verifică încă peste 25 min. Nu se observă modificări comparativ cu primul moment. Amestecul de reacție se concentrează și reziduul se distribuie între EtOAc și H₂O. Stratul organic se separă, se spală cu soluție salină saturată, se usucă deasupra Na₂SO₄ și se filtrează. Filtratul se concentrează, se introduce în CH₂Cl₂, iarăși se concentrează și reziduul se plasează în vid înalt. Produsul, compusul intermediar 3b, se utilizează în etapa următoare.

CL/SM: t_R = 1,83 min, SM m/z = 644,55 [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP
Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm
Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic
Gradient: 0 min...1,5 min 2...100% ACN, 1,5 min...2,8 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3 min 2% ACN.



Compusul intermediar 3c - N-(7-((2S,3S,4R,5R)-4-(terț-butildimetilsiloxi)-5-((terț-butildimetilsiloxi)metil)-5-cian-3-fluortetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4] triazin-4-il)benzamidă

La o soluție de compus intermediar 3b (produsul brut din etapa precedentă, 1,79 mmol presupuse) în ACN (16 ml) se adaugă CDI (436 mg, 2,69 mmol) într-o singură porție. Reacția se conduce într-o atmosferă de N₂. Peste 20 minute reacția se verifică prin CL/SM. Vârfuluri cu masa materialului inițial și produsului sunt puțin separate în timp. Amestecul de reacție se mai verifică peste 1,5 h. Vârful UV, corespunzător materialului inițial, practic dispare, iar intensitatea vârfului de masă se diminuează. Amestecul de reacție se diluează cu CH₂Cl₂ și se stinge cu amestec 1:1 de NaHCO_{3(ap.)} saturat și H₂O. Straturile se separă, stratul apos iarăși se extrage cu CH₂Cl₂ și straturile organice combinate se extrag cu amestec 1:1 de soluție salină saturată și H₂O, se usucă deasupra Na₂SO₄ și se filtrează. Filtratul se concentrează și compusul intermediar 3c se izolează prin cromatografie pe coloană cu silica gel, utilizând gradientul următor de eluenți: 0% EtOAc în hexane, majorând până la 20% EtOAc în hexani, pauză la 20% EtOAc în hexani și apoi majorând până la 40% EtOAc în hexani.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,31 (s, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,65 (t, *J* = 8 Hz, 1H), 7,54 (t, *J* = 8 Hz, 1H), 7,15 (d, 4 Hz, 1H), 7,02 (s, 1H), 5,82 (d, *J* = 24 Hz, 1H), 5,51 (ddd, *J* = 52; 4,8; 2,8 Hz, 1H), 4,70 (dd, *J* = 18,4; 4,4 Hz, 1H), 3,94 (dd, *J* = 53,2; 11,2 Hz, 2H), 0,93 (s, 9H), 0,84 (s, 9H), 0,17 (s, 3H), 0,16 (s, 3H), 0,05 (s, 3H), 0,01 (s, 3H).

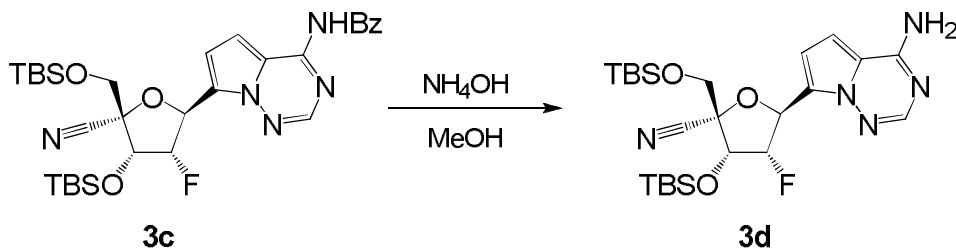
¹⁹F RMN (376 MHz, DMSO-*d*₆) δ -194,658 (dt, *J* = 53; 21,4 Hz).

CL/SM: *t*_R = 1,84 min, SM *m/z* = 626,60 [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm

Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic

Gradient: 0 min...1,5 min 2...100% ACN, 1,5 min...2,8 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3 min 2% ACN.



Compusul intermediar 3d - (2R,3R,4S,5S)-5-(4-aminopirrol[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-3-(terț-butildimetilsililoxi)-2-((terț-butildimetilsililoxi)metil)-4-fluortetrahidrofuran-2-carbonitri

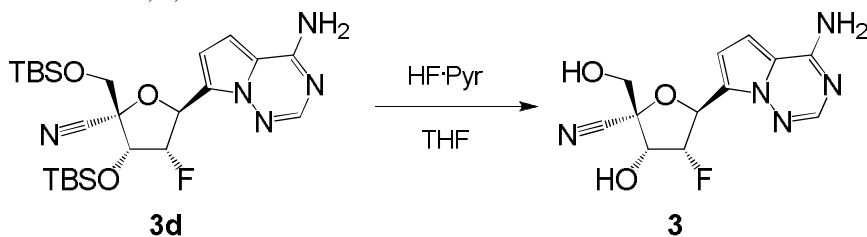
La o soluție de compus intermediar 3c (770 mg, 1,23 mmol) în MeOH (11,2 ml), răcită pe o baie cu apă cu gheață, se adaugă NH₄OH_(ap) concentrat (3,74 ml). Baia de răcire se îndepărtează și soluția eterogenă rezultată se agită peste noapte. În ziua următoare reacția este incompletă, fapt confirmat prin CL/SM. Se adaugă o cantitate suplimentară de NH₄OH_(ap) concentrat (4 ml) și 2-MeTHF (12 ml). Amestecul de reacție devine omogen, dar peste 20 de minute nu se observă progresarea ulterioară a reacției. Amestecul de reacție se concentrează și reziduu se dizolvă în THF (15 ml). La acest amestec se adaugă NH₄OH_(ap) concentrat (5 ml) și o cantitate suficientă de MeOH (1,9 ml) pentru a obține o soluție omogenă și monofazică. Amestecul de reacție se agită la temperatura camerei timp de 22 h. Reacția este aproape complet (circa 5% de material inițial restant). Amestecul de reacție se diluează cu CH₂Cl₂ și H₂O. Straturile se separă și stratul apos se diluează cu NaHCO_{3(ap.)} concentrat și se extrage cu CH₂Cl₂. Stratul apos se neutralizează cu 2N HCl și apoi se extrage cu CH₂Cl₂. Straturile organice combinate se usucă deasupra Na₂SO₄, care apoi se elimină prin filtrare. Filtratul se concentrează și compusul intermediar 3d se izolează din reziduu prin cromatografie pe coloană cu silica gel, utilizând gradientul următor al eluenților: 0% EtOAc în hexani majorând până la 50% EtOAc în hexani, pauză la 50% EtOAc în hexani și apoi majorând până la 100% EtOAc în hexani.

CL/SM: *t*_R = 1,59 min, SM *m/z* = 522,47 [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm

Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic

Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,8 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN.



Exemplul 3 - (2R,3R,4R,5S)-5-(4-aminopiro[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluor-3-hidroxi-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-carbonitril

La o soluție de compus intermediar 3d (100 mg, 0,191 mmol) în THF (2 ml), într-o eprubetă de polipropilenă, la 0°C într-o atmosferă de N₂ se adaugă 70% HF piridină în piridină (60 μl, 0,478 mmol).
5 Peste 20 min amestecul de reacție se verifică; reacția nu se produce, de aceea se adaugă o cantitate suplimentară de 70% HF piridină în piridină (150 μl) și baie de răcire se îndepărtează. Peste 1 h și 50 min se adaugă o cantitate suplimentară de 70% HF piridină în piridină (150 μl). Peste încă 2 h se adaugă o cantitate suplimentară de 70% HF piridină în piridină (300 μl). Peste încă 2 h și 15 min se adaugă o cantitate suplimentară de 70% HF piridină în piridină (1 ml). Amestecul devine transparent și omogen la
10 ultima adăugare a 70% HF piridină în piridină. Amestecul de reacție se agită peste noapte. Reacția se finalizează în ziua următoare. Amestecul de reacție se răcește pe o baie de gheață și se stinge cu H₂O și o cantitate mică de NaHCO_{3(ap)} saturat. Amestecul se concentrează și reziduu se introduce în DMSO. Materialul insolubil restant se elimină prin filtrare și filtratul se purifică parțial prin CLIP. Materialul izolat se dizolvă în DMF și se purifică prin CLIP. Compusul din exemplul 3 se izolează cu 0,5% sub formă de sare cu TFA.

¹H RMN (400 MHz, DMF-*d*₇) δ 7,92 (s, 1H), 6,99 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 6,89 (d, *J* = 4,9 Hz, 1H), 6,64 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 5,92 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 5,83 (dd, *J* = 25,2; 2 Hz, 1H), 5,40 (ddd, *J* = 54,8; 4,8; 2,4 Hz, 1H), 4,75 (dt, *J* = 22; 5,2 Hz, 1H), 4,02 (dd, *J* = 12; 6,4 Hz, 1H), 3,87 (dd, *J* = 12; 6,4 Hz, 1H).

¹⁹F RMN (376 MHz, DMF-*d*₇) δ -74,92 (s), -193,726 (dt, *J* = 54,5; 23,3 Hz).

20 CL/SM: t_R = 0,56 min, SM *m/z* = 294,10 [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

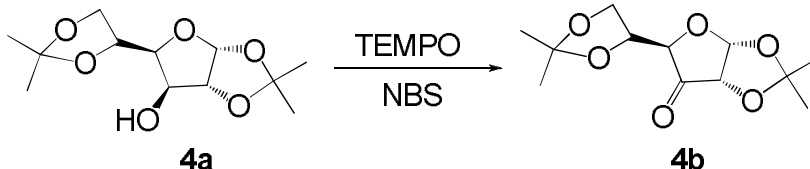
Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm

Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid formic, Apă cu 0,1% acid formic

Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,8 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN.

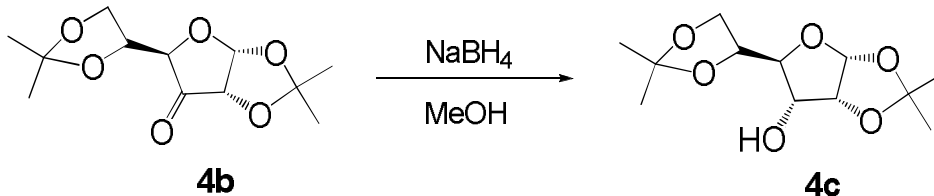
25 CLIP: t_R = 3,220 min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100; Coloană: Phenomenex Kinetex C18 2,6 μm 100Å, 4,6 x 100 mm; Solvenți: Acetonitril cu 0,1% TFA, Apă cu 0,1% TFA

Gradient: 0 min...-8,0 min 2...98% ACN la 1,5 ml/min.



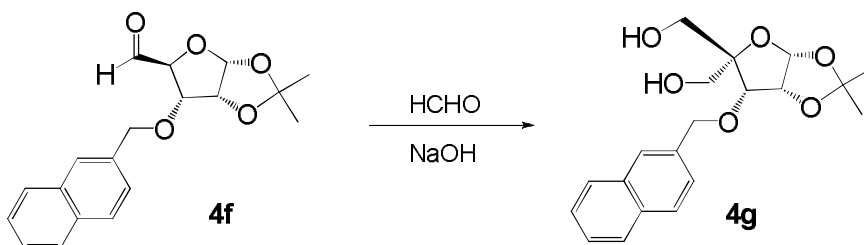
30 Compusul intermediar 4b - (3aR,5R,6aS)-5-((R)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-2,2-dimetildihidrofuro[3,2-d][1,3]dioxol-6(3aH)-onă

Intr-un balon cu 4 gâturi cu fund rotund cu un volum de 10 l se plasează o soluție de compus intermediar 4a, (3aR,5S,6S,6aR)-5-((R)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[3,2-d][1,3]dioxol-6-ol (500 g, 1,90 mol) în amestec de diclorometan/apă (2,7 l/2,3 l) la temperatura camerei. La aceasta se adaugă carbonat de sodiu (290 g, 3,42 mol). Apoi se adaugă carbonat de potasiu (451 g, 3,24 mol). Apoi se adaugă 2,2,6,6-tetrametilpiperidinoxil (TEMPO, 15,2 g, 96,31 mmol). La amestec se adaugă bromură de tetrabutilamoniu (31 g, 95,20 mmol). La acesta în porții la 35°C se adaugă *N*-bromsuccinimidă (514 g, 2,86 mol). Soluția formată se lasă să interacționeze cu agitare timp de 2 h la temperatura camerei. Soluția formată se extrage cu 2x1 L de diclorometan și straturile organice se combină. Amestecul format se spală cu 1x1,5 L de apă. Amestecul se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează sub vid. Aceasta rezultă cu compusul intermediar 4b (brut).



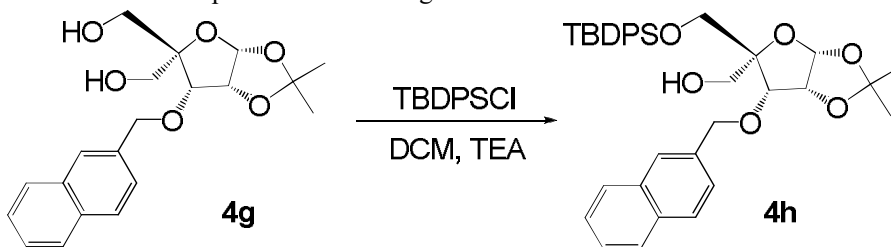
Compusul intermediar 4c - (3aR,5S,6R,6aR)-5-((R)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[3,2-d][1,3]dioxol-6-ol

45 Intr-un balon cu 4 gâturi cu fund rotund cu un volum de 2 L se plasează o soluție de compus intermediar 4b (370 g, 1,29 mol) în metanol (1300 ml). La aceasta în porții la temperatura camerei borhidru de sodiu (26,4 g, 706,38 mmol). Soluția formată se lasă să interacționeze cu agitare timp de 2 h la temperatura camerei. Amestecul format se concentrează în vid. Apoi reacția se stinge prin adăugare 1000 ml de soluție apoasă de 5% de clorură de amoniu. Soluția formată se extrage cu 3x500 ml de



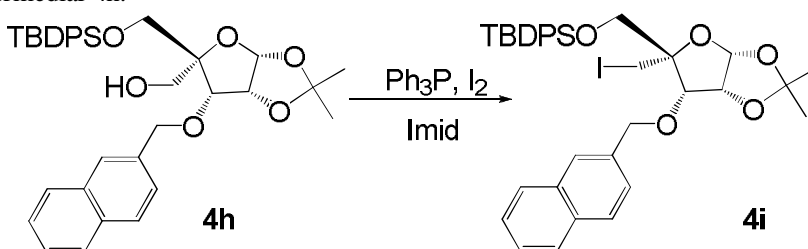
Compusul intermediar 4g - ((3aR,6S,6aR)-2,2-dimetil-6-(naftalen-2-ilmetoxi)tetrahidrofuro[3,2-d][1,3]dioxole-5,5-diil)dimetanol

Intr-un balon cu 4 gâturi cu fund rotund cu un volum de 10 L la temperatura camerei se plasează o soluție de compus intermediar 4f (250 g, 761,36 mmol) în amestec de apă/tetrahidrofuran (1250/1250 ml). La aceasta în picături cu agitare la 0...15°C se adaugă 2N hidroxid de sodiu (ap) (1500 ml). La amestec se adaugă formaldehidă (620 ml). Soluția formată se lasă să interacționeze cu agitare peste noapte la temperatura camerei. Soluția formată se extrage cu 2x2000 ml de acetat de etil. Amestecul format se spală cu 2x2000 ml de clorură de sodiu(ap). Straturile organice se combină și se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru. Reziduul se aplică pe colana cu silica gel cu eter de petrol:acetat de etil (2/1). Produsul brut se recrystalizează din amestec de acetat de etil:etanol in raport de 1g/(1 ml:1 ml). Aceasta rezultă cu compusul intermediar 4g.



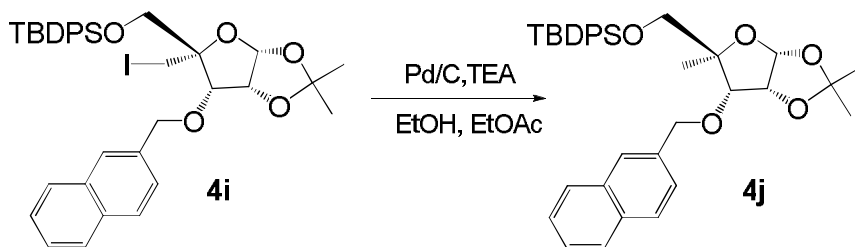
Compusul intermediar 4h - ((3aR,5R,6S,6aR)-5-((terț-butildifenilsililoxi)metil)-2,2-dimetil-6-(naftalen-2-ilmetoxi)tetrahidrofuro[3,2-d][1,3] dioxol-5-il)metanol

Intr-un balon cu 4 gâturi cu fund rotund cu un volum de 5 L, purjat și menținut într-o atmosferă de azot inertă, se plasează o soluție de compus intermediar 4g (125 g, 346,84 mmol) in diclormetan (2500 ml) la temperatura camerei. La amestec la temperatura camerei se adaugă trietilamină (157,5 ml). La acesta în picături cu agitare la 0...10°C se adaugă clorură de terț-butildifenilsilil (157,5 ml). Soluția formată se lasă să interacționeze cu agitare peste noapte la temperatura camerei. Reacția apoi se stinge prin adăugarea a 37.5 ml de metanol. Amestecul format se spală cu 2x500 ml de 5% clorură de hidrogen (ap) și 2 x 500 ml de bicarbonat de sodiu (ap). Amestecul format se spală cu 2 x 500 ml de 1N hidroxid de sodiu (ap). Amestecul se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează în vid. Produsul brut se purifică prin recrystalizare din amestec de diclormetan/hexan. Aceasta rezultă cu compusul intermediar 4h.



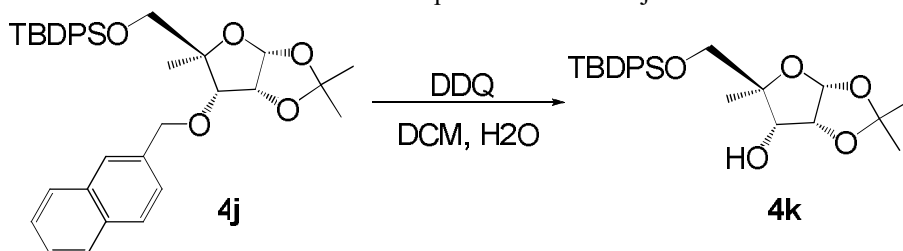
Compusul intermediar 4i - terț-butil(((3aR,5R,6S,6aR)-5-(iodometil)-2,2-dimetil-6-(naftalen-2-ilmetoxi)tetrahidrofuro[3,2-d][1,3]dioxol-5-il)metoxi) difenilsilan

Intr-un balon cu 3 gâturi cu fund rotund cu un volum de 1000 ml, purjat și menținut într-o atmosferă de azot inertă, se plasează o soluție de compus intermediar 4h (20 g, 31,73 mmol) in toluen (320 ml), trifenilfosfină (35 g, 132,11 mmol), imidazol (8,96 g, 132,26 mmol). Apoi în câteva porții la temperatura de 60°C se adaugă iod (16,95 g, 66,8 mmol). Soluția formată se agită peste noapte la 80°C pe o baie de ulei. Amestecul de reacție se răcește până la temperatura camerei cu o baie de apă/gheață. Soluția formată se diluează cu 1000 ml de acetat de etil. Amestecul format se spală cu 2x300 ml de tiosulfat de sodiu (ap). Amestecul format se spală cu 1x300 ml de clorură de sodiu(ap). Amestecul se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează în vid. Reziduul se aplică pe coloană de silica gel cu amestec de acetat de etil/ eter de petrol (1:10). Aceasta rezultă cu compusul intermediar 4i.



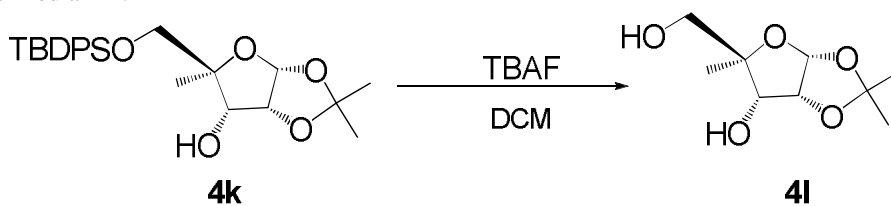
Compusul intermediar 4j - terț-butildifenil(((3aR,5R,6S,6aR)-2,2,5-trimetil-6-(naftalen-2-ilmetoxi)tetrahidrofuro[3,2-d][1,3]dioxol-5-il)metoxi)silan

Intr-un balon cu fund rotund cu un volum de 2000 ml, purjat și menținut într-o atmosferă de azot inertă, se plasează o soluție de compus intermediar 4i (66 g, 88,47 mmol) în etanol/acetat de etil (600/600 ml), trietilamină (20,7 g, 202,52 mmol), paladiu pe carbon (10% mas, 24,8 g, 23,30 mmol). Soluția formată se agită timp de 3 h la 40°C. Produsele solide se filtrează. Amestecul format se concentrează în vid. Soluția formată se diluează cu 1500 ml de acetat de etil. Amestecul format se spală cu 1x500 ml de clorură de sodiu_(ap). Amestecul se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează în vid. Aceasta rezultă cu compusul intermediar 4j.



Compusul intermediar 4k - (3aR,5R,6S,6aR)-5-((terț-butildifenilsiloxi)metil)-2,2,5-trimetiltetrahidrofuro[3,2-d][1,3]dioxol-6-ol

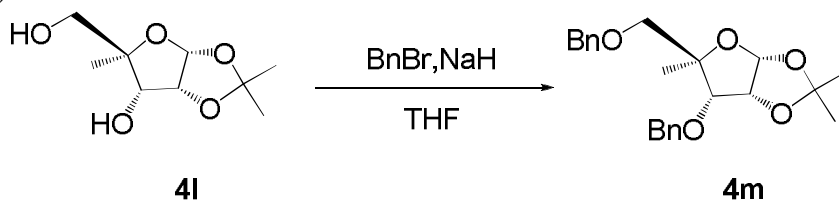
Intr-un balon cu fund rotund cu un volum de 500 ml se plasează o soluție de compus intermediar 4j (1,0 g, 1,63 mmol) în diclormetan (15 ml), apă (1,25 ml) și 2,3-diclor-5,6-dician-1,4-benzochinonă (DDQ, 780 mg, 3,40 mmol). Soluția formată se agită timp de 1 h la temperatura camerei. Soluția formată se diluează cu 50 ml de diclormetan. Amestecul format se spală cu 1 x 30 ml of apă și 2x30 ml de bicarbonat de sodiu_(ap). Amestecul format se spală cu 1x30 ml de clorură de sodiu_(ap). Amestecul se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează în vid. Reziduul se aplică pe coloană de silica gel cu amestec de acetat de etil/eter de petrol (1:20~1:10). Aceasta rezultă cu compusul intermediar 4k.



Compusul intermediar 4l - (3aR,5R,6S,6aR)-5-(hidroximetil)-2,2,5-trimetiltetrahidrofuro[3,2-d][1,3]dioxol-6-ol

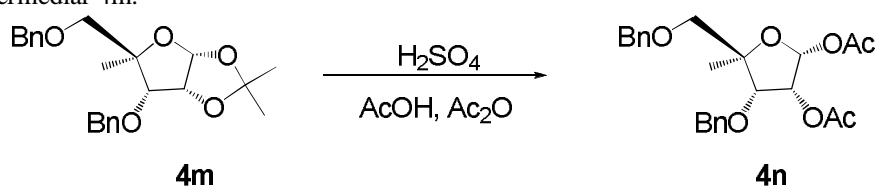
Intr-un balon cu fund rotund cu un volum de 50 ml se plasează o soluție de compus intermediar 4k (520 mg, 1,12 mmol) în tetrahidrofuran (9 ml), fluorură de tetrabutilamoniu (369 mg, 1,40 mmol). Soluția formată se agită timp de 2 h la temperatura camerei. Amestecul format se concentrează în vid. Reziduul se aplică pe coloană cu silica gel cu amestec de diclormetan/metanol (100:1). Aceasta rezultă cu compusul intermediar 4l.

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 5,64 (d, *J* = 3,9Hz, 1H), 4,96 (d, *J* = 6,6Hz, 1H), 4,67 (m, 1H), 4,55 (m, 1H), 4,05 (m, 1H), 3,24...3,30 (m, 1H), 3,11...3,18 (m, 1H), 1,50 (s, 3H), 1,27 (s, 3H), 1,16 (s, 1H).



Compusul intermediar 4m - (3aR,5R,6S,6aR)-6-(benziloxi)-5-(benziloximetil)-2,2,5-trimetiltetrahidrofuro[3,2-d][1,3]dioxol

Intr-un balon cu 3 gaturi cu fund rotund cu un volum de 50 ml, purjat și menținut într-o atmosferă de azot inertă, se plasează o soluție de compus intermediar 4l (180 mg, 0,84 mmol) în tetrahidrofuran (4 ml). Apoi la temperatura de 0°C se adaugă în porții hidrură de sodiu (60% mas., 140 mg, 3,50 mmol). Soluția formată se agită timp de 30 min la 0°C. Soluția formată se lasă să interacționeze cu agitare pentru adițional 30 min la temperatura camerei. La aceasta se adaugă în picături cu agitare la 0°C bromură de benzil (452 mg, 2,62 mmol). Soluția formată se lasă să interacționeze cu agitare timp de încă suplimentar 3 h la temperatura camerei. Reacția apoi se stinge prin adăugarea a 30 ml de clorură de amoniu (ap). Soluția formată se extrage cu 50 ml de diclormetan și straturile organice se combină și se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează în vid. Reziduul se aplică pe coloană cu silica gel cu amestec de acetat de etil/eter de petrol (1:30...1:20). Aceasta rezultă cu compusul intermediar 4m.

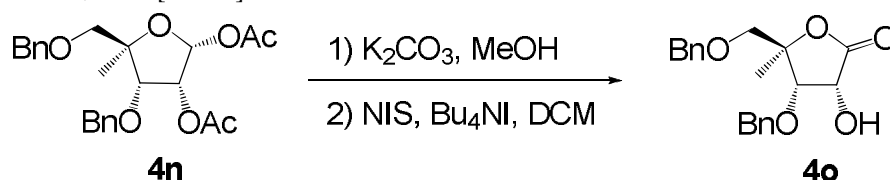


15 Compusul intermediar 4n - (2R,3R,4S,5R)-4-(benziloxi)-5-(benziloximetil)-5-metiltetrahidrofuran-2,3-diil diacetat

Intr-un balon cu fund rotund cu un volum de 1000 ml se plasează o soluție de compus intermediar 4m (de asemenea preparat în conformitate cu (Biosci. Biotech. Biochem. 57, 1993, p. 1433-1438); 45 g, 111,19 mmol), acid acetic (270 ml), anhidridă acetică (90 ml), acid sulfuric (45 d). Soluția formată se agită timp de 30 min la temperatura camerei. Reacția apoi se stinge prin adăugarea a 1000 ml de amestec de apă/gheață. Soluția formată se diluează cu 3000 ml de acetat de etil. Amestecul format se spală cu 2x1000 ml de apă și 4x1000 ml de bicarbonat de sodiu (ap). Amestecul format se spală cu 2x1000 ml de clorură de sodiu (ap). Amestecul se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează în vid. Reziduul se aplică pe coloană cu silica gel cu amestec de acetat de etil/eter de petrol (1:30...1:20). Aceasta rezultă cu compusul intermediar 4n.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,28...7,38 (m, 10H), 6,13 (s, 1H), 5,37 (d, $J = 4,8\text{Hz}$, 1H), 4,44...4,68 (m, 4H), 4,33 (d, $J = 5,1\text{Hz}$, 1H), 3,33...3,45 (m, 2H), 2,15 (s, 3H), 1,88 (s, 3H), 1,35 (s, 3H).

SM $m/z = 451[\text{M}+\text{Na}]$



30 Compusul intermediar 4o - (3R,4S,5R)-4-(benziloxi)-5-(benziloximetil)-3-hidroxi-5-metildihidrofuran-2(3H)-onă

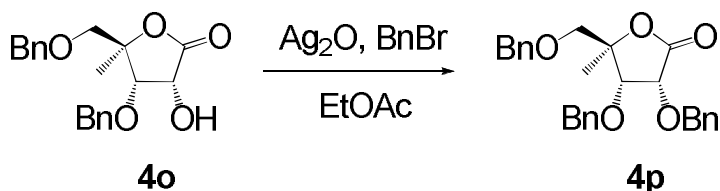
Compusul intermediar 4n (1,3 g, 3 mmol) se dizolvă în MeOH anhidru (15 ml). Se adaugă pulbere de carbonat de potasiu (456 mg, 3,3 mmol) și amestecul de reacție se agită timp de 1 h. Amestecul de reacție se concentrează apoi sub presiune redusă. Se adaugă acetoneitril și se agită timp de 5 min. Substanțele insolubile se filtrează și se spală cu acetoneitril. Filtratul se concentrează sub presiune redusă. Substanța formată se dizolvă în DCM anhidru (20 ml). Se adaugă iodură de tetrabutilamoniu (1,66 g, 4,5 mmol) și N-iod-succinimidă (NIS, 1,69 g, 2,5 mmol). Timp de 16 ore amestecul de reacție se agită în întuneric. Se mai adaugă NIS (0,85 g, 1,25 mmol) și se agită timp de 4 h. Se mai adaugă NIS (0,85 g, 1,25 mmol) și se agită timp de 2 zile în întuneric. Amestecul de reacție se diluează cu EtOAc și se spală de două ori cu soluție apoasă saturată de tiosulfat de sodiu și apoi cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu. Partea organică se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează sub presiune redusă. Se purifică pe coloană cu silica gel (0...30% EtOAc în hexani), se obține compusul intermediar 4o.

45 ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,35...7,22 (m, 10H), 4,82 (bs, 1H), 4,75...4,66 (m, 2H), 4,55...4,44 (m, 2H), 4,13 (d, $J = 8\text{Hz}$, 1H), 3,70...3,45 (m, 2H), 1,38 (s, 3H).

CL/SM: $t_R = 2,58$ min, SM $m/z = 342,9$ [M+1], 360,0 [M+H₂O]; sistemul CL/SM: Thermo LCQ Advantage; Phenomenex Gemini, C₁₈, 5 μ , 110Å, 30 x 4,6 mm; tampon A: 0,1% acid acetic în apă; tampon B: 0,1% acid acetic în acetonitril

5-100% Tampon B timp de 2,5 min, apoi 100% timp de 0,9 min la 2 ml/min.

5 CLIP: $t_R = 3,78$ min; sistemul CLIP: Agilent 1100; Phenomenex Gemini, C₁₈, 5 μ , 110Å, 50 x 4,6 mm; tampon A: 0,05% TFA în apă; tampon B: 0,05% TFA în acetonitril; 2...98% tampon B timp de 5 min la 2ml/min.



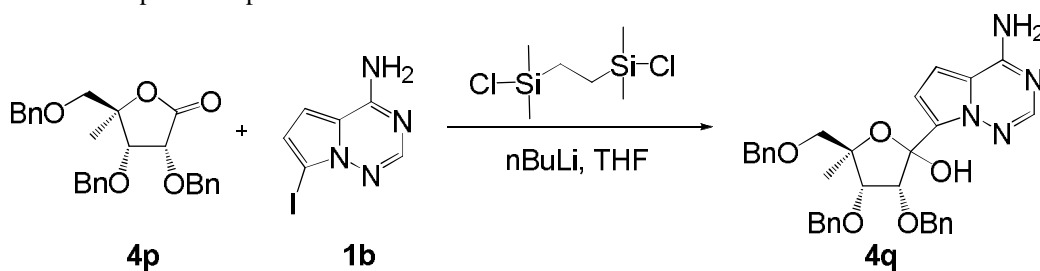
10 Compusul intermediar 4p - (3R,4S,5R)-3,4-bis(benziloxi)-5-(benziloximetil)-5-metiltetrahidrofuran-2(3H)-onă

Compusul intermediar 4o (955 mg, 2,79 mmol) se dizolvă în EtOAc (10 ml). Se adaugă bromură de benzil (400 μ l, 3,35 mmol) și oxid de argint(I) (712 mg, 3,07 mmol). Se agită la 60°C într-o atmosferă de N₂ (gaz) în întuneric timp de 3 h. Se mai adaugă bromură de benzil (400 μ l, 3,35 mmol) și se agită la 60°C într-o atmosferă de N₂ (gaz) în întuneric timp de 16 h. Se mai adaugă oxid de argint(I) (350 mg, 1,5 mmol) și se agită la 60°C într-o atmosferă de N₂ (gaz) în întuneric timp de 8 h. Se răcește până la temperatura camerei. Produsele solide se filtrează și se spală cu EtOAc. Filtratul se concentrează sub presiune redusă cu obținerea unui ulei. Se adaugă hexani și se agită timp de 2 h cu formarea unei substanțe solide. Substanța solidă se colectează și se spală cu hexani. Substanța solidă se usucă în vid înalt, se obține compusul intermediar 4p.

20 ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,35...7,16 (m, 15H), 5,03 (d, $J = 12$ Hz, 1H), 4,79...4,71 (m, 2H), 4,52...4,40 (m, 4H), 4,06 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 3,49...3,39 (m, 2H), 1,38 (s, 3H).

25 CL/SM: $t_R = 2,91$ min, SM $m/z = 433,1$ [M+1], 450,1 [M+H₂O]; sistemul CL/SM: Thermo LCQ Advantage; Phenomenex Gemini, C₁₈, 5 μ , 110Å, 30 x 4,6 mm; tampon A: 0,1% acid acetic în apă; tampon B: 0,1% acid acetic în acetonitril; 5...100% tampon B timp de 2,5 min, apoi 100% timp de 0,9 min la 2 ml/min.

CLIP: $t_R = 4,54$ min; sistemul CLIP: Agilent 1100; Phenomenex Gemini, C₁₈, 5 μ , 110Å, 50 x 4,6 mm; tampon A: 0,05% TFA în apă; tampon B: 0,05% TFA în acetonitril
2...98% tampon B timp de 5 min la 2 ml/min.

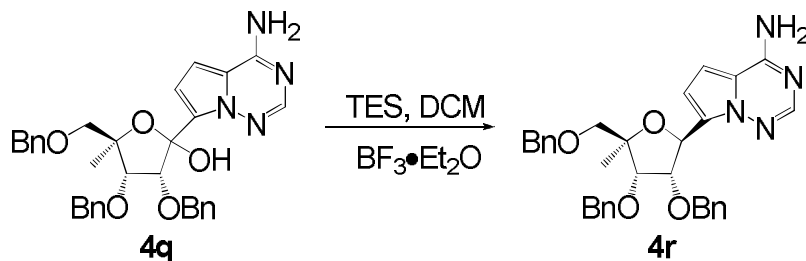


30 Compusul intermediar 4q - (3R,4S,5R)-2-(4-aminopirol[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis(benziloxi)-5-(benziloximetil)-5-metiltetrahidrofuran-2-ol

35 Compusul intermediar 1b (148 mg, 0,570 mmol) și 1,2-bis(chlorodimethylsilyl)etan (123 mg, 0,570 mmol) se dizolvă în THF anhidru (20 ml) și se agită într-o atmosferă de Ar(gaz) la -70°C. La amestecul de reacție în picături se adaugă *n*-butillitiu (2,5M soluție în hexani, 684 μ l, 1,71 mmol), menținând totodată temperatura internă sub -65°C. Amestecul de reacție se lasă să se încălzească până la -40°C și se menține timp de 15 min. Apoi în amestecul de reacție într-o atmosferă de Ar (gaz) se adaugă soluție de compus intermediar 4p (224 mg, 0,518 mmol) în THF (10 ml), răcită în prealabil până la -70°C. Soluția formată se agită timp de 2 h la -40°C. Amestecul de reacție se toarnă apoi într-un amestec agitat de EtOAc și acid citric (ap). Se agită timp de 5 min. Stratul organic se colectează și se spală cu NaCl(ap) saturată. Stratul organic se usucă deasupra Na₂SO₄ anhidru și se concentrează sub presiune redusă. Se purifică prin CLIP preparativă, se obține compusul intermediar 4q.

40 CL/SM: $t_R = 2,60$ min, SM $m/z = 567,3$ [M+1], 565,1 [M-1]; Sistemul CL/SM: Thermo LCQ Advantage; Phenomenex Gemini, C₁₈, 5 μ , 110Å, 30 x 4,6 mm; tampon A: 0,1% acid acetic în apă; tampon B: 0,1% acid acetic în acetonitril; 5...100% tampon B, timp de 2,5 min, apoi 100% timp de 0,9 min la 2 ml/min.

CLIP: $t_R = 3,22$ min; Sistemul CLIP: Agilent 1100; Phenomenex Gemini, C_{18} , 5 μ , 110Å, 50 x 4,6 mm; tampon A: 0,05% TFA în apă; tampon B: 0,05% TFA în acetonitril; 2...98% tampon B timp de 5 min la 2ml/min.



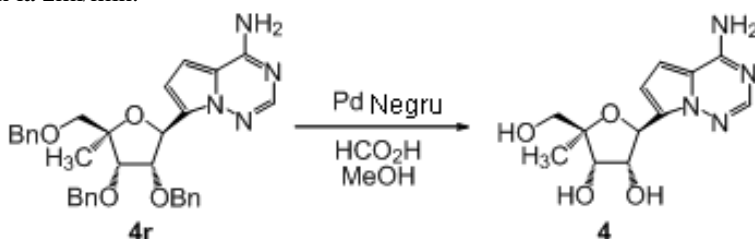
5 Compusul intermediar 4r - 7-((2S,3S,4S,5R)-3,4-bis(benziloxi)-5-(benziloximetil)-5-metiltetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-amină

Compusul intermediar 4q (81 mg, 0,143 mmol) se dizolvă în DCM anhidru (15 ml) și se agită într-o atmosferă de N_2 (gaz) într-o baie de gheață. Se adaugă într-o porție trietilsilan (114 μ l, 0,715 mmol). Se adaugă în picături trifluorura de bor-dietil eterat (27 μ l, 0,215 mmol). Se agită timp de 15 min și apoi se îndepărtează baia cu gheață. Se agită timp de 60 min, se adaugă trietilamină (100 μ l, 0,715 mmol) și se concentrează sub presiune redusă. Se dizolvă în EtOAc și se spală cu $NaHCO_{3(ap)}$ saturat (2x) și apoi cu $NaCl_{(ap)}$ saturată. Fraakțiile organice se usucă deasupra Na_2SO_4 anhidru și se concentrează sub presiune redusă. Se purifică pe coloană cu silica gel (0...80% EtOAc în hexani), se obține compusul intermediar 4r.

15 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,71 (s, 1H), 7,35...7,10 (m, 16H), 6,82...6,78 (m, 1H), 5,57 (d, $J=4,4$ Hz, 1H), 4,70...4,45 (m, 6H), 4,25...4,15 (m, 2H), 3,55...3,40 (m, 2H), 1,42 (s, 3H).

CL/SM: $t_R = 2,75$ min, SM $m/z = 551,4$ [$M+1$]; Sistemul CL/SM: Thermo LCQ Advantage Phenomenex Gemini, C_{18} , 5 μ , 110Å, 30 x 4,6 mm; tampon A: 0,1% acid acetic în apă; tampon B: 0,1% acid acetic în acetonitril; 5...100% tampon B timp de 2,5 min, apoi 100% timp de 0,9 min la 2 ml/min.

20 CLIP: $t_R = 3,57$ min; Sistemul CLIP: Agilent 1100; Phenomenex Gemini, C_{18} , 5 μ , 110Å, 50 x 4,6 mm; tampon A: 0,05% TFA în apă; tampon B: 0,05% TFA în acetonitril; 2...98% tampon B timp de 5 min la 2ml/min.



25 Exemplul 4 - (2R,3S,4R,5S)-5-(4-aminopirol[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-(hidroximetil)-2-metiltetrahidrofuran-3,4-diol

Compusul intermediar 4r (23 mg, 0,042 mmol) se dizolvă în soluție de acid formic/MeOH (1:9, 10 ml). Se adaugă paladiu negru și se agită la 60°C, timp de 90 min. Se răcește până la temperatura camerei și se filtrează prin Celite. Filtratul se concentrează sub presiune redusă. Se purifică prin CLÎP preparativă. Se concentrează sub presiune redusă. Se dizolvă în $NaHCO_{3(ap)}$ și se purifică prin CLÎP în condiții neutre, se obține compusul din exemplul 4.

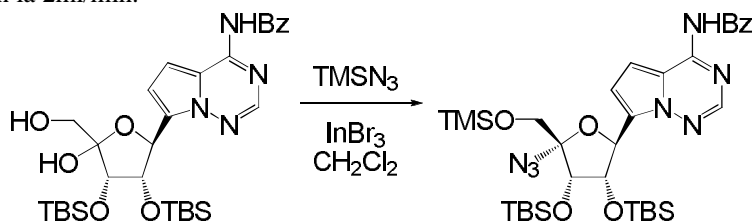
Sistemul CLÎP preparativă: Gilson 215 Liquid Handler; Phenomenex Gemini, C_{18} 4 μ , 100 x 30,0 mm

35 Tampon A: 0,1% TFA în apă; tampon B: 0,1% TFA în acetonitril; 5...100% tampon B, timp de 13 min la 20 ml/min.

1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8,01 (s, 1H), 7,41 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 7,02 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 5,33 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 4,53...4,49 (m, 1H), 4,15 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 3,50 (m, 2H), 1,27 (s, 3H).

40 CL/SM: $t_R = 0,30$ min, SM $m/z = 281,3$ [$M+1$], 279,0 [$M-1$]; Sistemul CL/SM: Thermo LCQ Advantage; Phenomenex Gemini, C_{18} , 5 μ , 110Å, 30x4,6 mm; tampon A: 0,1% acid acetic în apă; tampon B: 0,1% acid acetic în acetonitril; 5...100% tampon B, timp de 2,5 min, apoi 100%, timp de 0,9 min la 2 ml/min.

CLIP: $t_R = 0.42$ min; Sistemul CLIP: Agilent 1100; Phenomenex Gemini, C₁₈, 5 μ , 110Å, 50 x 4,6 mm; tampon A: 0,05% TFA în apă; tampon B: 0,05% TFA în acetonitril; 2...98% tampon B timp de 5 min la 2ml/min.

**1m****5a**

5 Compusul intermediar 5a - N-(7-((2S,3S,4S,5R)-5-azido-3,4-bis(terț-butildimetilsililoxi)-5-((trimetilsililoxi)metil)tetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

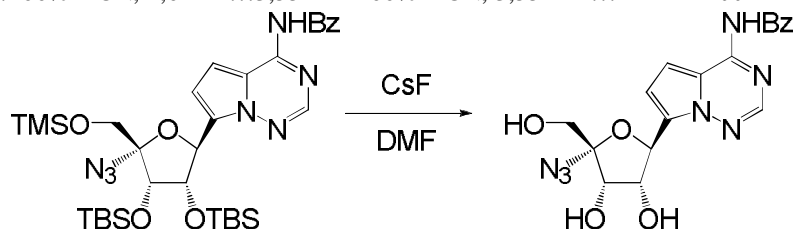
La o soluție de compus intermediar brut 1m, N-(7-((2S,3S,4S)-3,4-bis(terț-butildimetilsililoxi)-5-hidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă, (~110 mg, ~0,18 mmol) și azidotrimetilsilan (242 μ l, 1,84 mmol) în diclormetan (1.5 ml) la temperatura camerei într-o atmosferă de argon se adaugă bromură de indiu (III) (130 mg, 0,369 mmol). Peste 1 h amestecul de reacție se stinge cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (1 ml). Amestecul format se distribuie între diclormetan (20 ml) și soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (20 ml). Fazele se separă și stratul apos se extrage cu diclormetan (20 ml). Straturile organice combinate se usucă deasupra sulfatului de sodiu și se concentrează sub presiune redusă, se obține compusul intermediar 5a, care se utilizează direct în etapa următoare fără purificare suplimentară.

15

CL/SM: $t_R = 3,52$ min, SM $m/z = 712,16$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6 μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm

Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...2,0 min 2...100% ACN, 2,0 min...3,55 min 100% ACN, 3,55 min...4,2 min 100%...2% ACN la 2 μ l/min.

**5a****5b**

20

Compusul intermediar 5b - N-(7-((2S,3R,4S,5R)-5-azido-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

La o soluție de compus intermediar brut 5a (~120 mg, ~0,168 mmol) în DMF (5 ml) la temperatura camerei se adaugă fluorură de cesiu (256 mg, 1,68 mmol). Peste 25 h amestecul de reacție se diluează cu soluție salină saturată (100 ml) și amestecul format se extrage cu acetat de etil (3x100 ml). Straturile organice combinate se usucă deasupra sulfatului de sodiu și se concentrează sub presiune redusă, se obține compusul intermediar 5b, care se utilizează direct în etapa următoare fără purificare suplimentară.

25

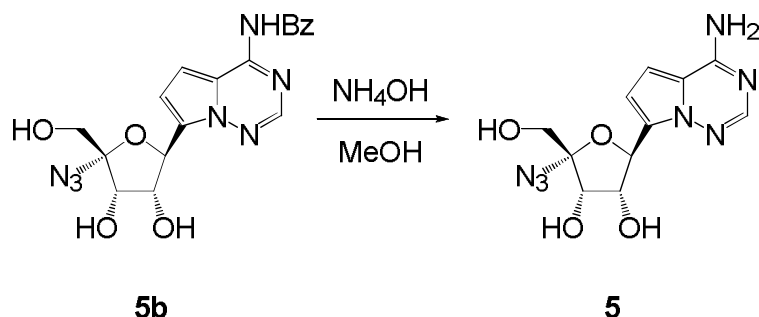
CL/SM: $t_R = 1,40$ min, SM $m/z = 412,17$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

30

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50x4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...2.0 min 2...100% ACN, 2,0 min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%...2% ACN, 3,2 min...3,5 min 2% ACN la 2 μ l/min.

35

CLIP: $t_R = 2,46$ min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5 μ C18 110Å, 50 x 4.6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5.0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.



Exemplul 5 - (2R,3S,4R,5S)-5-(4-aminopirrol[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-azido-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3,4-diol

La o soluție de compus intermediar brut 5b în metanol (1 ml) la temperatura camerei se adaugă hidroxid de amoniu concentrat (1 ml). Peste 2 zile amestecul de reacție se concentrează sub presiune redusă și se purifică direct prin CLÎP preparativă (Phenominex Sinergi 4 μ Hidro-RR 80Å, Coloană 150x30 mm, gradient 5...100% acetonitril/apă). Frațiile cu conținut de produs dezirabil se combină și se concentrează sub presiune redusă. Reziduu se purifică repetat prin cromatografie pe coloană cu SiO₂ (4 g SiO₂ Combiflash HP Gold Column, 0–20% metanol/diclorometan), se obține compusul din exemplul 5.

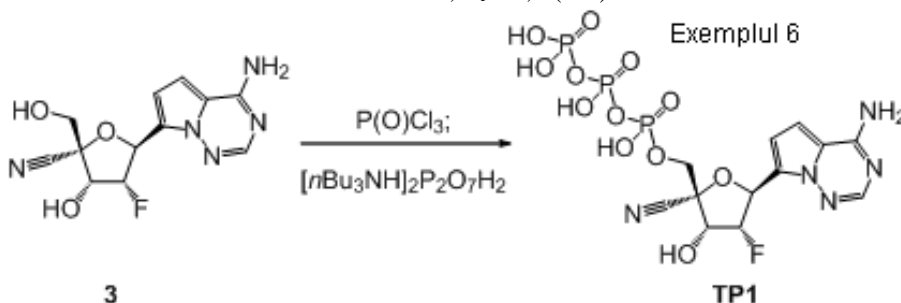
¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,79 (s, 1H), 6,86 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 6,77 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 5,51 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 4,63 (t, $J = 5,8$ Hz, 1H), 4,37 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H), 3,69 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 3,59 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H).

CL/SM: $t_R = 0,76$ min, SM $m/z = 308,08$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50x4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...1,5 min 2...100% ACN, 1,5 min...2,2 min 100% ACN, 2,2 min...2,4 min 100%...2% ACN, 2,4 min...2,5 min 2% ACN la 2 μ l/min.

CLIP: $t_R = 1,287$ min; Sistemul CLÎP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5 μ C18 110Å, 50x4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.;

CSS: eluent: 20% metanol in diclorometan, $R_f = 0,4$ (UV)



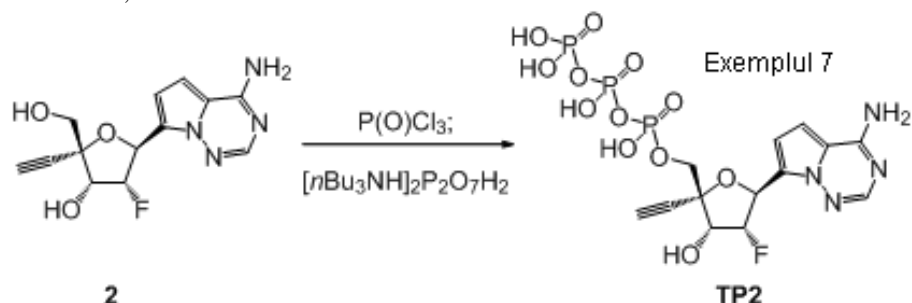
Exemplul 6 (de asemenea menționat ca TP-1) - ((2R,3R,4R,5S)-5-(4-aminopirrol[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-cian-4-fluor-3-hidroxitetrahidrofuran-2-il)metil tetrahidrotrifosfat

Compusul din exemplul 3 (15,0 mg, 0,05 mmol) se usucă într-un balon in vid peste noapte. In balon se adaugă trimetilfosfat (0,5 ml) și 1,8-bis(dimetilamino)naftalină (25 mg, 0,12 mmol) și soluția se lasă să se agite într-o atmosferă de N₂ cu răcire pe o baie cu gheață/apă. Se adaugă oxiclurură de fosfor distilată (10 μ l, 0,11 mmol) și amestecul de reacție se lasă să se agite timp de 4 h cu răcire. Se adaugă tributilamină (0,1 ml, 0,42 mmol) și pirofosfat de tributilamoniu (0,8 ml de soluție 0,5 M in DMF, 0,4 mmol) și amestecul de reacție se lasă să se agite timp de adițional 45 min cu răcire. Reacția se stinge cu bicarbonat de trietilamoniu (0,5 M, 5 ml). Solvenții se elimină prin evaporare cu rotor și amestecul brut restant se dizolvă în 2 ml de apă. Produsul se purifică utilizând o coloană Sephadex DEAE A-25 cu gradient liniar 0–1 M bicarbonat de trietilamoniu. Produsul cu conținut de fracții se combină și se concentrează, se obține produsul din exemplul 6 (TP1), care apoi se dizolvă în 1 ml de apă cu obținerea 10 mM de soluție.

SM $m/z = 532,0$ [M-1]

CLÎP cu schimb de ioni, timpul de retenție: 12,015 min; Coloană: DNAPac PA-100 4x250 mm SN

Solventul A: apă milliQ; Solventul B: 0,5 M bromură de tetraetilamoniu; programul gradientului solventului: echilibrare cu utilizarea 100% A timp de 10 min, apoi gradientul 0...80% B timp de 14 min.; Fluxul: 1 ml/min.



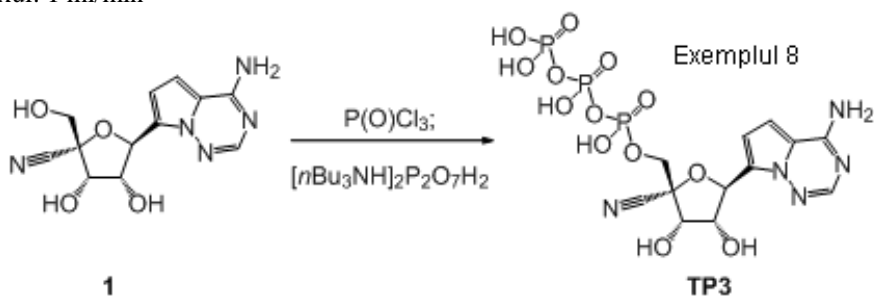
5 Exemplul 7 (de asemenea TP2) - ((2R,3R,4R,5S)-5-(4-aminopirrol[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-etinil-4-fluor-3-hidroxitetrahidrofuran-2-il)metil tetrahidrotrifosfat

Compusul din exemplul 2 (16,0 mg, 0,055 mmol) se usucă într-un balon in vid peste noapte. In balon se adaugă trimetilfosfat (0,5 ml) și 1,8-bis(dimetilamino)naftalenă (28 mg, 0,13 mmol) și soluția se lasă să se agite într-o atmosferă de N₂, răcită cu o baie de gheață/apă. Se adaugă oxiclorigură de fosfor distilată (11 μl, 0,12 mmol) și amestecul de reacție se lasă să se agite timp de 4 h cu răcire. Se adaugă tributilamină (0,11 ml, 0,42 mmol) și tributilamoniu pirofosfat (0,9 ml de soluție 0,5 M în DMF, 0,45 mmol) și amestecul de reacție se lasă să se agite timp de încă 45 min cu răcire. Reacția se stinge cu bicarbonat de trietilamoniu (0,5 M, 5 ml). Solvenții se elimină prin evaporare cu rotor și amestecul brut restant se dizolvă în 2 ml de apă. Produsul se purifică utilizând o coloană Sephadex DEAE A-25 un gradient liniar 0-1 M bicarbonat de trietilamoniu. Frațiile cu conținut de produs se combină și se concentrează, se obține compusul din exemplul 7 (TP2), care apoi se dizolvă în 1,4 ml de apă, se obține 10 mM soluție.

SM m/z = 531,0 [M-1]

CLÎP cu schimb de ioni, timpul de retenție: 19,829 min; Coloană: DNAPac PA-100 4 x 250 mm SN

20 Solvent A: milliQ apă; Solvent B: 0,5 M bromură de tetraetilamoniu; programul gradientului solventului: echilibru utilizand 100% A timp de 10 min, apoi gradientul 0-80% B timp de 14 min; fluxul: 1 ml/min



25 Exemplul 8 (TP3) - ((2R,3S,4R,5S)-5-(4-aminopirrol[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-cian-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metil tetrahidrotrifosfat

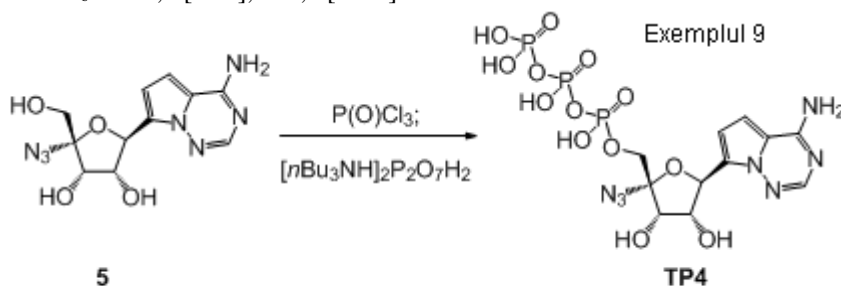
La o soluție de compus din exemplul 1 (5,0 mg, 0,017 mmol) in PO(OMe)₃ (0,6 ml) la 0°C se adaugă POCl₃ (45 mg, 0,29 mmol). Amestecul de reacție se agită la 0°C timp de 10 h, moment în care CLÎP cu schimb de ioni atestă aproximativ 50% conversie. Se adaugă soluție de săruri de pirofosfat tributilamină (250 mg) in ACN (0,6 ml), apoi tributilamină (110 mg, 0,59 mmol). Amestecul de reacție se agită la 0°C timp de 0,5 h și CLÎP cu schimb de ioni arată finalizarea reacției. Amestecul de reacție se stinge cu tampon bicarbonat de trietilamoniu (1 M, 5 ml). Amestecul de reacție se agită la temperatura camerei timp de 0,5 h, apoi se concentrează și de două ori se coevaporă cu apă. Reziduu se dizolvă in H₂O (5 ml) și se plasează pe o coloană schimbătoare de ioni, eluare cu H₂O, apoi cu 5-35% tampon bicarbonat de trietilamoniu (1M)-H₂O. Frațiile cu conținut de produs se combină, se concentrează și se coevaporă cu H₂O. Reziduu se purifică cu o coloană schimbătoare de ioni, se obține materialul brut. ³¹P RMN arată, că acest material conține impurități, de aceea produsul se purifică repetat cu coloană C-18, eluare cu 0...15% ACN-H₂O conținând 0,05% TEA și fracțiile cu conținut de produs se combină și se concentrează cu formarea a 3,6 mg de material, care conține numai 1.5 echiv de TEA, conform analizei ¹H RMN. Materialul se dizolvă in H₂O (1 ml) și se adaugă tampon bicarbonat

de trietilamoniu (1 M, 0,1 ml). Amestecul format se concentrează sub presiune redusă și se coevaporează de două ori H₂O sub presiune redusă, se obține compusul din exemplul 8 (TP3), sub formă de sare de tetra-TEA.

¹H RMN (400 MHz, D₂O): δ 7,78 (s, 1H), 6,85 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 6,82 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 5,51 (d, *J* = 3,0 Hz, 1H), 4,65...4,55 (m, 2H), 4,20...4,08 (m, 2H), 3,15...3,00 (m, 24H), 1,18...1,08 (m, 36H).

³¹P RMN (162 MHz, D₂O): δ -6,25 (d, *J* = 52 Hz), -12,21 (d, *J* = 52 Hz), -22,32 (t, *J* = 52 Hz).

SM *m/z* = 530,2 [M-1], 532,1 [M+1]



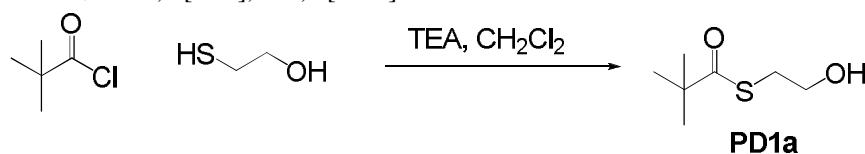
Exemplul 9 (TP4) - ((2R,3S,4R,5S)-5-(4-aminopirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-azido-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metil tetrahidrotrifosfat

La o soluție de compus din exemplul 5 (6,0 mg, 0,019 mmol) în PO(OMe)₃ (0,6 ml) la 0°C se adaugă POCl₃ (45 mg, 0,29 mmol). Amestecul de reacție se agită la 0°C timp de 10 h, moment în care CLÎP cu schimb de ioni atestă aproximativ 50% conversie. Se adaugă soluție de săruri de pirofosfat tributilamină (250 mg) în ACN (0,6 ml), apoi tributilamină (110 mg, 0,59 mmol). Amestecul de reacție se agită la 0°C timp de 6 ore. Amestecul de reacție se stinge cu tampon bicarbonat de trietilamoniu (1 M, 5 ml). Amestecul de reacție se agită la temperatura camerei timp de 0,5 h, apoi se concentrează și de două ori se coevaporă cu apă. Reziduul se dizolvă în H₂O (5 ml) și se plasează pe o coloană schimbătoare de ioni, eluare cu H₂O, apoi cu 5-35% tampon bicarbonat de trietilamoniu (1M)-H₂O. Frațiile cu conținut de produs se combină, se concentrează și se coevaporă cu H₂O. Reziduul se purifică cu o coloană schimbătoare de ioni, se obține materialul brut. ³¹P RMN arată, că acest material conține impurități, de aceea produsul se purifică repetat cu coloană schimbătoare de ioni, iarăși se obține materialul brut. Produsul se tratează cu NaHCO₃ (10 mg) și amestecul se concentrează sub presiune redusă. Reziduul solid se dizolvă în 0,5 ml de H₂O și se adaugă 40 μl de NaOH (1n). Amestecul obținut se purifică pe coloană C-18, eluare cu H₂O și fracțiile cu conținut de produs se combină și se concentrează sub presiune redusă cu formarea compusului din exemplul 9 (TP4) sub formă de sare de tetrasodiu.

¹H RMN (400 MHz, D₂O): δ 7,76 (s, 1H), 6,88 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H), 6,81 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 5,59 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H), 4,60 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H), 4,55 (d, *J* = 5,8 Hz, 1H), 3,99 (qd, *J* = 11,2; 5,5 Hz, 3H).

³¹P RMN (162 MHz, D₂O): δ -8,13 (d, *J* = 19,8 Hz), -14,04 (d, *J* = 18,9 Hz), -24,00 (t, *J* = 19,3 Hz).

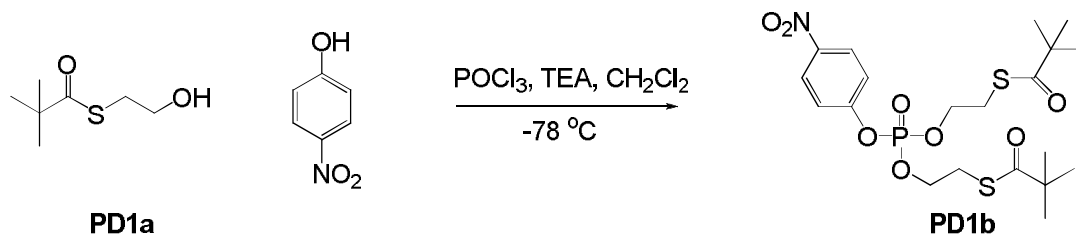
SM *m/z* = 546,1 [M-1], 547,9 [M+1]



Compusul intermediar PD1a - S-2-hidroxietil 2,2-dimetilpropantioat

La o soluție de 2-tioetanol (3,50 ml, 50,0 mmol) și trietilamină (7,02 ml, 50,0 mmol) în CH₂Cl₂, care se răcește până la -78°C, se adaugă în picături timp de 30 min clorură de pivalil (6,15 ml, 50,0 mmol). Amestecul de reacție se lasă să se încălzească lent până la temperatura camerei și evoluție reacției se monitorizează prin CSS. Peste 30 min se determină, că reacția este completă și se stinge cu apă. Straturile se separă și stratul apos se spală cu CH₂Cl₂. Produsele organice se combină și se usucă deasupra sulfatului de sodiu. Produsele solide se filtrează și solventul se elimină sub presiune redusă. Produsul brut se purifică prin cromatografie pe silica gel 0...50% EtOAc/hexane, se obține compusul intermediar PD1a.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 4,89 (t, *J* = 5,5 Hz, 1H), 3,49...3,36 (m, 2H), 2,86 (t, *J* = 6,7 Hz, 2H), 1,14 (s, 9H).



Oxiclorigura de fosfor (281 μl , 3,08 mmol) se plasează în CH_2Cl_2 (5 ml) și soluția se răcește până la -78°C. Tioesterul PD1a (1,00 g, 6,17 mmol) se plasează în CH_2Cl_2 (5 ml) și se adaugă lent în soluție de

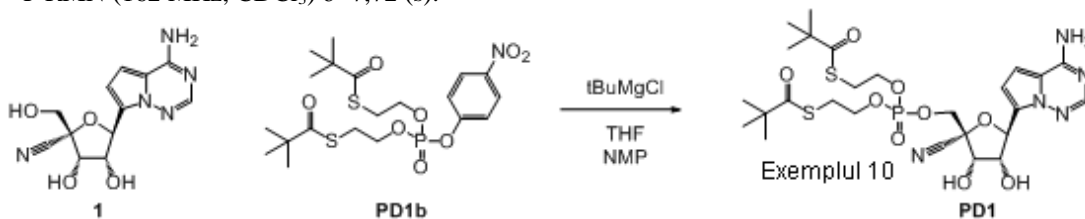
5 POCl₃. Apoi în picături se adaugă TEA (891 μl , 6,16 mmol) și se lasă să se agite rece timp de 30 min. Apoi se încălzește până la temperatura camerei și se lasă să se agite timp de 2 h. Într-o porție se adaugă p-nitrofenol (428 mg, 3,08 mmol), apoi se adaugă lent TEA (449 μl , 3,08 mmol). Se agită la temperatura camerei timp de 30 min. CSS (70:30 Hexani/EtOAc) arată doar o singură pată, dar, conform CL/SM, sunt două vârfuri (produsul și bis-p-nitrofenolat). Soluția se diluează cu eter și

10 produsele solide se elimină prin filtrare și se elimină. Soluția inițială se concentrează și se purifică prin cromatografie pe silica gel, se obține un amestec de produs și bis-p-nitrofenolat. Amestecul apoi se purifică repetat prin CLÎP, se obține compusul intermediar PD1b, S,S'-2,2'-((4-nitrofenoxi)fosforil)bis(oxi)bis(etan-2,1-diil) bis(2,2-dimetilpropanetioat).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,29...8,21 (m, 2H), 7,46...7,36 (m, 2H), 4,23 (br q, $J = 7,7$ Hz, 4H), 3,16 (br t, $J = 6,7$ Hz, 4H), 1,23 (s, 18H).

15

³¹P RMN (162 MHz, CDCl₃) δ -7,72 (s).



Exemplul 10 (de asemenea menționat ca PD1) - S,S'-2,2'-(((2R,3S,4R,5S)-5-(4-aminopirrol[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-cian-3,4-dihidroxitetrahidrofură-2-il)metoxi)fosforil)bis(oxi)bis(etan-2,1-diil)bis(2,2-dimetilpropanetioat)

20

Compusul din exemplul 1 (6,0 mg, 0,02 mmol) se dizolvă în NMP (0,1 ml) și se adaugă THF (0,2 ml). Apoi la temperatura camerei într-o atmosferă de argon se adaugă clorura de *tert*-butil magneziu (1,0 M soluție în THF, 0,031 ml, 0,031 mmol). Peste 10 min se adaugă o soluție de compus intermediar PD1b (15,7 mg, 0,031 mmol) în THF (0,1 ml) și amestecul format se încălzește până la 50°C. Peste 5 h reziduu format se purifică prin CLÎP preparativă (Phenomenex Sinergi 4u Hidro-RR 80Å Coloană 150x30 mm, 40...100% gradient de acetonitril/apă). Frațiile cu conținut de produs dezirabil se combină și se liofilizează, se obține compusul din exemplul 10 (PD1).

25

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,82 (s, 1H), 6,69 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 6,64 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 5,56 (d, $J = 3,4$ Hz, 1H), 4,61 (br s, 2H), 4,45...4,32 (m, 2H), 4,22...4,06 (m, 4H), 3,13 (dt, $J = 11,7; 6,7$ Hz, 4H), 1,23 (s, 9H), 1,21 (s, 9H).

30

³¹P RMN (162 MHz, CDCl₃) δ -2,34 (s).

CL/SM: $t_R = 1,70$ min, SM $m/z = 660,02$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

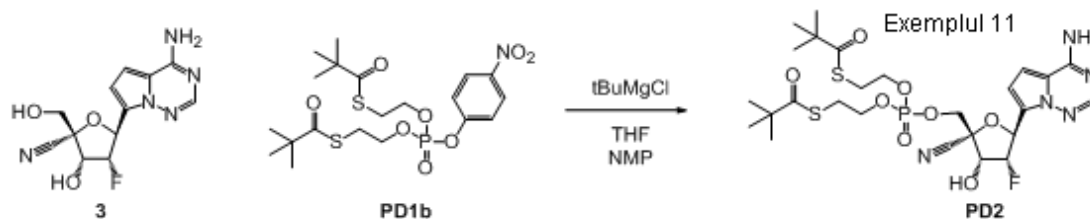
Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6 μ XB-C18 100A, 50x4,6 mm

Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...2,0 min

35 2...100% ACN, 2,0 min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%...2% ACN, 3,2 min...3,5 min 2% ACN la 2 $\mu\text{l}/\text{min}$.

CLIP: $t_R = 3,204$ min; Sistemul CLÎP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5 μ C18 110A, 50x4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA

Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.



Exemplul 11 (PD2) - S,S'-2,2'-(((2R,3R,4R,5S)-5-(4-aminopirol[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-cian-4-fluor-3-hidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)fosforil)bis (oxi)bis(etan-2,1-diil)bis(2,2-dimetilpropanoat)

5 Compusul din exemplul 3 (10,5 mg, 0,036 mmol) se dizolvă în NMP (0,1 ml) și se adaugă THF (0,1 ml). Apoi la temperatura camerei într-o atmosferă de argon se adaugă clorură de *terț*-butil magneziu (1,0 M soluție în THF, 0,054 ml, 0,054 mmol). Peste 10 min se adaugă o soluție de compus intermediar PD1b (27,3 mg, 0,054 mmol) în THF (0,1 ml) și amestecul format se încălzește până la 50°C. Peste 24 h rezidul format se purifică prin CLÎP preparativă (Phenomenex Sinergi 4u Hidro-RR 80Å, Coloană 150x30 mm, 40...100% gradient de acetonitril/apă). Frațiile cu conținut de produs dezirabil se combină și se liofilizează, se obține compusul din exemplul 11 (PD2).

10 RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,94 (s, 1H), 6,75 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 6,67 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 5,77 (dd, *J* = 27,8; 1,4 Hz, 1H), 5,43 (ddd, *J* = 55,2; 4,9; 1,3 Hz, 1H), 4,93 (dd, *J* = 21,2; 4,9 Hz, 1H), 4,49 (dd, *J* = 11,3; 7,8 Hz, 1H), 4,40 (dd, *J* = 11,3; 7,8 Hz, 1H), 4,10 (ddt, *J* = 15,9; 8,0; 6,7 Hz, 4H), 3,16...3,04 (m, 4H), 1,23 (s, 9H), 1,21 (s, 9H).

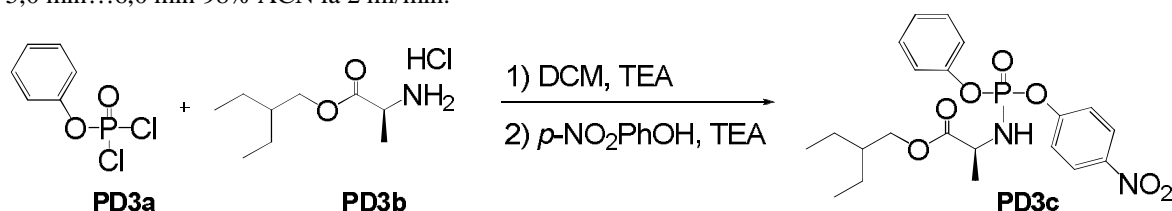
15 ³¹P RMN (162 MHz, CDCl₃) δ -2,10 (s).

¹⁹F RMN (376 MHz, CDCl₃) δ -191,64 (ddd, *J* = 55,0; 27,8; 21,3 Hz).

CL/SM: *t_R* = 1,85 min, SM *m/z* = 662,03 [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

10 Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...2,0 min 2...100% ACN, 2,0 min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%...2% ACN, 3,2 min...3,5 min 2% ACN la 2 μl/min.

CLIP: *t_R* = 3,385 min; Sistemul CLÎP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5μ C18 110Å, 50x4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.



25

Compusul intermediar PD3c - (2S)-2-etilbutil 2-((4-nitrofenoxi)(fenoxi) fosforilamino)propanoat

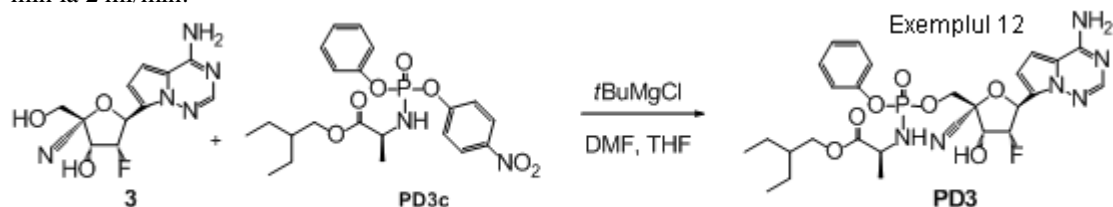
30 Fenil diclorofosfatul PD3a (1,5 ml, 10 mmol) se dizolvă în 30 ml DCM anhidru și se agită într-o atmosferă de N₂ (gaz) pe o baie de gheață. Se adaugă într-o porție sarea de HCl a amino esterului PD3b, hidrociorură de (S)-2-etilbutil 2-aminopropanoat (preparată printr-o metodă cunoscută (Eur. J. Med. Chem. 44, 2009, p. 3765-3770), 2,1 g, 10 mmol). Se adaugă în picături TEA (3 ml, 22 mmol). Se agită timp de 1 h la 0°C. Se adaugă într-o porție *p*-nitrofenol (1,4 g, 10 mmol) și TEA (1,5 ml, 11 mmol). Amestecul de reacție se agită apoi la temperatura camerei timp de 16 h. Se diluează cu DCM și se spală cu NaHCO_{3(ap)} saturat. Frațiile organice se usucă deasupra Na₂SO₄ anhidru și se concentrează sub presiune redusă. Se purifică pe coloană cu silica gel (0...15% EtOAc în hexani), se obține compusul intermediar PD3c.

35 ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,23 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,41...7,30 (m, 4H), 7,25...7,19 (m, 3H), 4,10...4,00 (m, 3H), 3,90...3,83 (m, 1H), 1,55...1,45 (m, 1H), 1,42...1,31 (m, 7H), 0,87 (t, *J* = 7,2Hz, 6H).

40 ³¹P RMN (162 MHz, CDCl₃) δ -3,04 (s), -3,10 (s).

CL/SM: *t_R* = 2,87min, SM *m/z* = 451,1 [M+1], 449,0 [M-1]; Sistemul CL/SM: Thermo LCQ Advantage; Phenomenex Gemini, C₁₈, 5 μ, 110Å, 30 x 4,6 mm; tampon A: 0,1% acid acetic în apă; tampon B: 0,1% acid acetic în acetonitril; 5...100% tampon B timp de 2,5 min, apoi 100% timp de 0,9 min la 2 ml/min.

CLIP: $t_R = 4,40\text{min}$; Sistemul CLIP: Agilent 1100; Phenomenex Gemini, C_{18} , 5μ , 110\AA , $50 \times 4,6$ mm; tampon A: 0,05% TFA în apă; tampon B: 0,05% TFA în acetonitril; 2...98% tampon B timp de 5 min la 2 ml/min.



5 Exemplul 12 (PD3) - (2S)-2-etilbutil 2-(((2R,3R,4R,5S)-5-(4-aminopirrol[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-cian-4-fluor-3-hidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi) fosforilamino)propanoat

Compusul din exemplul 3 (15 mg, 0,051 mmol) se dizolvă în DMF anhidru (1 ml) și se agită într-o atmosferă de N_2 (gaz). *p*-Nitrofenilfosfoamidat PD3c (35 mg, 0,077 mmol) se dizolvă în DMF anhidru (0,5 ml) și se adaugă la amestecul de reacție într-o porție. Se adaugă în picături *t*BuMgCl în THF (1M în THF, 77 μ l, 0,077 mmol). Se agită timp de 2 h. Se adaugă o cantitate suplimentară de *p*-nitrofenilfosfoamidat (35 mg în 0,5 ml DMF anhidru) și o cantitate suplimentară de *t*BuMgCl (1M în THF, 50 μ l, 0,050 mmol). Se agită timp de 2 h. Se adaugă o cantitate suplimentară de *p*-nitrofenilfosfoamidat (35 mg în 0,5 ml DMF anhidru) și o cantitate suplimentară de soluție de *t*BuMgCl (1M în THF, 50 μ l, 0,050 mmol). Se agită timp de 16 h. Se diluează cu EtOAc și se spală cu $NaHCO_{3(ap)}$ saturat (3x). Se spală cu $NaCl_{(ap)}$ saturată și fracțiile organice se usucă deasupra Na_2SO_4 anhidru. Se concentrează sub presiune redusă. Se purifică pe coloană cu silica gel (0...5% MeOH în DCM). Frațiile se combină și se concentrează sub presiune redusă. Se purifică prin CLIP preparativă cu TFA în calitate de modificator, se obține compusul din exemplul 12 (PD3).

Sistemul CLIP prep.: Gilson 215 Liquid Handler; Phenomenex Gemini, C_{18} 4u, $100 \times 30,0$ mm.

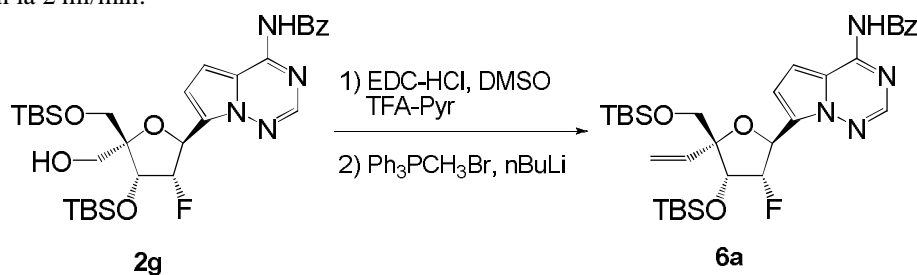
20 Tampon A: 0,1% TFA în apă; tampon B: 0,1% TFA în acetonitril; 5...100% tampon B timp de 13 min la 20 ml/min.

1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,89 (s, 1H), 7,31...7,13 (m, 6H), 6,80...6,75 (m, 1H), 5,80...5,70 (m, 1H), 5,35...5,20 (m, 1H), 4,80...4,62 (m, 1H), 4,60...4,45 (m, 2H), 4,35...4,10 (m, 1H), 4,06...3,96 (m, 3H), 1,49...1,28 (m, 8H), 0,90...0,82 (m, 6H).

25 ^{31}P RMN (162 MHz, $CDCl_3$) δ 2,36 (s), 2,22 (s).

CLIP: $t_R = 3,00\text{min}$; Sistemul CLIP: Agilent 1100; Phenomenex Gemini, C_{18} , 5μ , 110\AA , $50 \times 4,6$ mm; tampon A: 0,05% TFA în apă; tampon B: 0,05% TFA în acetonitril; 2...98% tampon B timp de 5 min la 2 ml/min.

30 CL/SM: $t_R = 2,39\text{min}$, SM $m/z = 605,1$ [M+1], 603,0 [M-1]; Sistemul CL/SM: Thermo LCQ Advantage; Phenomenex Gemini, C_{18} , 5μ , 110\AA , $30 \times 4,6$ mm; tampon A: 0,1% acid acetic în apă; tampon B: 0,1% acid acetic în acetonitril; 5...100% tampon B timp de 2,5 min, apoi 100% timp de 0,9 min la 2 ml/min.



35 Compusul intermediar 6a - N-(7-((2S,3S,4R,5R)-4-(terț-butildimetilsililoxi)-5-((terț-butildimetilsililoxi)metil)-3-fluor-5-viniltetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4] triazin-4-il)benzamidă

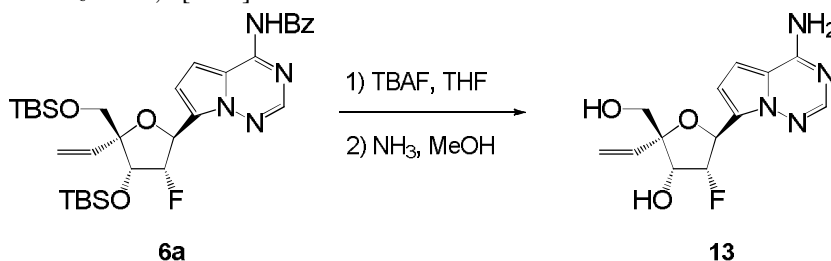
Compusul intermediar 2g, N-(7-((2S,3S,4R,5R)-4-(terț-butildimetilsililoxi)-5-((terț-butildimetilsililoxi)metil)-3-fluor-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirol[1,2-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă, (220 mg, 0,35 mmol) se dizolvă în 5 ml DMSO anhidru și se agită într-o atmosferă de N_2 (gaz). Se adaugă EDCI (100 mg, 0,52 mmol) și apoi TFA-piridină (34 mg, 0,18 mmol). Se agită timp de 1 h. Se adaugă o cantitate suplimentară de EDCI (100 mg, 0,52 mmol) și se agită timp de 1 h. Monitorizarea prin CL/SM atestă produs de alcool inițial restant. Se adaugă o cantitate suplimentară de EDCI (100 mg, 0,52 mmol) și se agită timp de 1 h. Monitorizarea prin CL/SM arată conversia completă a reacției. Se diluează cu acetat de etil și se spală cu $NaHCO_{3(ap)}$ saturat (2x) și apoi cu $NaCl_{(ap)}$ saturată. Stratul organic se usucă deasupra Na_2SO_4 anhidru și se concentrează sub presiune redusă. Se purifică pe

o coloană cu silica gel (0...20% EtOAc în hexani). Frațiile se combină și se concentrează sub presiune redusă, se obține aldehydă sub formă de substanță solidă. Bromura de metil trifenilfosfoniu (500 mg, 1,40 mmol) se suspendează în 10 ml THF anhidru și se agită la -78°C într-o atmosferă de Ar (gaz). Se adaugă în picături soluție 2,5 M de *n*-butilitiu în hexan (560 μl, 1,40 mmol). Amestecul de reacție se agită pe o baie de gheață timp de 1 h, se obține un amestec de culoare galbenă. Aldehida, preparată anterior, se dizolvă în 5 ml de THF anhidru și se adaugă în picături în amestecul de reacție. Se îndepărtează baia de gheață și amestecul de reacție se lasă să se încălzească până la temperatura camerei. Se agită timp de 3 h la temperatura camerei. Se adaugă o soluție apoasă saturată de NH₄Cl și se extrage cu acetat de etil. Extractul organic se spală cu NaHCO_{3(ap)} saturat și apoi cu NaCl_(ap) saturată. Frațiile organice se usucă deasupra Na₂SO₄ anhidru și se concentrează subpresiune redusă. Se purifică pe coloană cu silica gel (0...20% EtOAc în hexani), se obține compusul intermediar 6a.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,22 (br s, 1H), 8,03 (br s, 2H), 7,58 (dt, *J* = 40,4; 7,4 Hz, 3H), 7,12 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 6,97 (s, 1H), 6,01 (dd, *J* = 17,5; 10,9 Hz, 1H), 5,58 (d, *J* = 22,8 Hz, 1H), 5,46 (dd, *J* = 17,5; 2,1 Hz, 1H), 5,25 (dd, *J* = 11,0; 2,0 Hz, 1H), 5,14 (ddd, *J* = 55,4; 4,9; 2,7 Hz, 1H), 4,61 (dd, *J* = 20,8; 4,8 Hz, 1H), 3,63...3,40 (m, 2H), 0,89 (s, 9H), 0,84 (s, 9H), 0,09 (d, *J* = 8,4 Hz, 6H), 0,00 (d, *J* = 14,1 Hz, 6H).

¹⁹F RMN (376 MHz, DMSO-*d*₆) δ -191,86 (d, *J* = 56,8 Hz).

SM *m/z* = 627,3 [M+1].



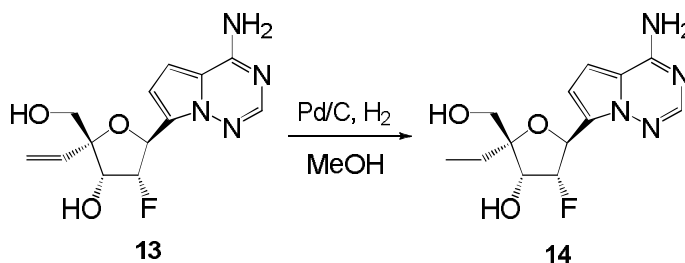
Exemplul 13 - (2R,3R,4R,5S)-5-(4-aminopirrol[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluor-2-(hidroximetil)-2-viniltetrahidrofuran-3-ol

Compusul intermediar 6a (146 mg, 0,23 mmol) se dizolvă în THF (10 ml) și soluția formată se agită pe o baie de gheață. Se adaugă o soluție 1M de TBAF în THF (700 μl, 0,70 mmol) și se agită timp de 2 h. Se diluează cu EtOAc și se spală cu NaCl_(ap) saturată (5x). Stratul organic se usucă deasupra Na₂SO₄ anhidru și se concentrează sub presiune redusă. Se dizolvă în soluție 7 M de amoniu în MeOH (7 ml) și se agită timp de 18 h. Amestecul de reacție se concentrează sub presiune redusă. Se purifică prin CLÎP preparativă pe o coloană C-18 cu TFA în calitate de modificator. Frațiile se combină și se concentrează sub presiune redusă. Se dizolvă în NaHCO_{3(ap)} și se purifică repetat prin CLÎP preparativă în condiții neutre. Frațiile se combină și se usucă prin congelare, se obține compusul din exemplul 13.

¹H RMN (400 MHz, D₂O) δ 7,54 (s, 1H), 6,62...6,49 (m, 2H), 5,98...5,79 (m, 1H), 5,55...5,36 (m, 2H), 5,31 (d, *J* = 11,1 Hz, 1H), 5,11 (ddd, *J* = 54,8; 5,2; 2,9 Hz, 1H), 4,42 (dd, *J* = 20,6; 4,8 Hz, 1H), 3,62...3,43 (m, 2H).

¹⁹F RMN (376 MHz, D₂O) δ -193,23 (dd, *J* = 54,7; 44,2 Hz).

SM *m/z* = 295,2 [M+1]



35

Exemplul 14 - (2R,3R,4R,5S)-5-(4-aminopirrol[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-etil-4-fluor-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ol

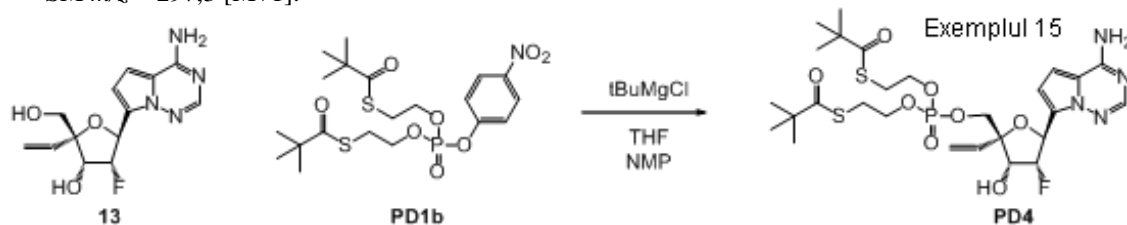
Compusul din exemplul 13 (5 mg, 0,017 mmol) se dizolvă în metanol (2 ml). Apoi se adaugă catalizatorul Degussa 10% Pd/C (2 mg) și amestecul format se agită într-o atmosferă de hidrogen gazos. Peste 40 min amestecul format se filtrează pentru eliminarea Pd/C și filtratul se concentrează sub presiune redusă. Reziduul se dizolvă în apă și se usucă prin congelare, se obține compusul din exemplul 14.

40

^1H RMN (400 MHz, D_2O) δ 7,67 (s, 1H), 6,79...6,55 (m, 2H), 5,54...5,12 (m, 2H), 4,46 (dd, $J = 15,1$; 5,5 Hz, 1H), 3,65...3,44 (m, 2H), 1,89...1,44 (m, 2H), 0,84 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H).

^{19}F RMN (376 MHz, D_2O) δ -197,62 (ddd, $J = 54,5$; 20,6; 15,0 Hz).

SM $m/z = 297,3$ [M+1].



5

Exemplul 15 (PD4) - S,S'-2,2'-(((2R,3R,4R,5S)-5-(4-aminopirrol[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluor-3-hidroxi-2-viniltetrahidrofuran-2-il)metoxi)fosforil)bis(oxi)bis(etan-2,1-diil) bis(2,2-dimetilpropanoat)

Compusul din exemplul 13 (5 mg, 0,017 mmol) se dizolvă în DMF anhidru (0,5 ml). Se adaugă într-o porție *p*-nitro-fenolat (13 mg, 0,026 mmol). Se adaugă în picături clorură de 1M *t*-butilmagneziu în THF (25 μl , 0,026 mmol). Se agită timp de 1 h. Se încălzește până la 50°C și se agită timp de 2 h. Se adaugă o cantitate suplimentară de *p*-nitro-fenolat (13 mg, 0,026 mmol) și se agită timp de 2 h. Se adaugă o cantitate suplimentară de clorură de 1M *t*-butilmagneziu în THF (25 μl , 0,026 mmol) și se agită timp de 16 h la 50°C. Se răcește până la temperatura camerei. Amestecul format se purifică direct prin CLÎP preparativă pe coloană și se eluează cu gradient liniar 0-100% ACN în apă, se obține compusul din exemplul 15 (PD4).

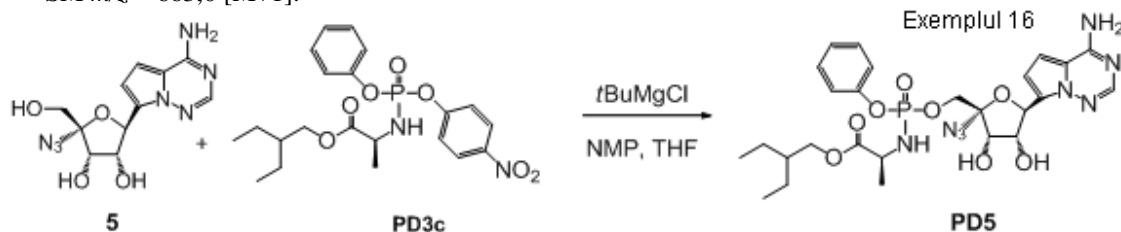
15

RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,84 (s, 1H), 6,92 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 6,80 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 6,10 (dd, $J = 17,4$; 10,9 Hz, 1H), 5,67 (dd, $J = 5,8$; 1,9 Hz, 1H), 5,61 (s, 1H), 5,45...5,35 (m, 1H), 5,15 (ddd, $J = 55,6$; 5,0; 2,2 Hz, 1H), 4,65 (dd, $J = 22,5$; 5,1 Hz, 1H), 4,13 (dd, $J = 11,1$; 5,2 Hz, 1H), 4,08...3,95 (m, 5H), 3,06 (dd, $J = 7,0$; 6,1 Hz, 4H), 1,21 (s, 9H), 1,18 (s, 9H).

20

^{19}F RMN (376 MHz, CD_3OD) δ 192,99 (td, $J = 55,7$; 23,6 Hz).

SM $m/z = 663,0$ [M+1].



25

Exemplul 16 (PD5) - (2S)-2-etilbutil 2-(((2R,3S,4R,5S)-5-(4-aminopirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-azido-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil) (amino)propanoat

Compusul din exemplul 5 (5 mg, 0,016 mmol) se dizolvă în *N*-metil-2-pirolidonă anhidră (0,2 ml) și într-o atmosferă de argon se adaugă THF (0,1 ml). Apoi la temperatura camerei se adaugă clorură de *tert*-butil magneziu (1M în THF, 24 μl , 0,024 mmol) și se sedimentează o substanță solidă de culoare albă. Peste 5 min în amestecul de reacție se adaugă într-o porție o soluție de *p*-nitrofenilfosfoamidat PD3c (15 mg, 0,032 mmol) în THF (0,1 ml) și amestecul format se încălzește până la 50°C. Peste 3,5 h amestecul de reacție se lasă să se răcească până la temperatura camerei și se agită timp de 18 h. Apoi se adaugă *p*-nitrofenilfosfoamidat PD3c (50 mg, 0,111 mmol) și apoi se adaugă clorură de *tert*-butil magneziu (1M în THF, 24 μl , 0,024 mmol) și amestecul de reacție se agită de încă 5 zile. Reziduu format se purifică apoi direct prin CLÎP preparativă (Phenominex Sinergi 4u Hidro-RR 80A, coloană 150 x 30 mm, gradient 40-100% acetonitril/apă). Frațiile cu conținut de produs dezirabil se combină și se liofilizează, se obține compusul din exemplul 16 (PD5) (amestec diastereomeric 2:1).

30

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,88 (br s, 1H), 7,33...7,22 (br m, 2H), 7,22...7,10 (br m, 3H), 6,69 (br d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 6,61 (br d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 5,64...5,56 (m, 1H), 4,54 (d, $J = 6,3$ Hz, 1H), 4,50...4,20 (m, 3H), 4,11...3,94 (m, 3H), 3,90...3,76 (m, 1H), 1,49 (s, $J = 6,2$ Hz, 1H), 1,40...1,24 (m, 7H), 0,86 (t, $J = 7,4$ Hz, 6H).

40

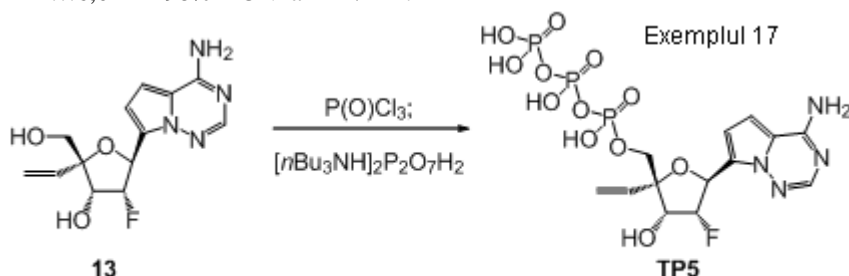
^{31}P RMN (162 MHz, CDCl_3) δ 2,68 (s), 2,56 (s).

CL/SM: $t_R = 1,70$ min, SM $m/z = 619,09$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP.

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6 μ XB-C18 100A, 50 x 4.6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...2,0 min 2...100% ACN, 2,0

min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%...2% ACN, 3,2 min...3,5 min 2% ACN la 2 μ l/min.

CLIP: $t_R = 3,010$ min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5 μ C18 110Å, 50 x 4.6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.



Exemplul 17 (TP5) - ((2R,3R,4R,5S)-5-(4-aminopirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluor-3-hidroxi-2-viniltetrahidrofuran-2-il)metil tetrahidrotrifosfat

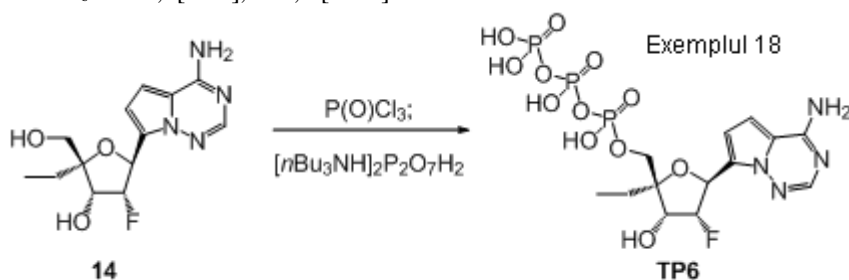
La o soluție de compus din exemplul 13 (6.0 mg, 0,020 mmol) în PO(OMe)₃ (0,6 ml) la 0°C se adaugă POCl₃ (50 mg, 0,32 mmol). Amestecul de reacție se agită la 0°C timp de 6 h, moment în care CLIP cu schimb de ioni arată aproximativ 90% de conversie. Se adaugă o soluție de săruri de pirofosfat tributilamină (250 mg) în ACN (0,6 ml), apoi tributilamină (110 mg, 0,59 mmol). Amestecul de reacție se agită la 0°C timp de 1 h. Amestecul de reacție se stinge cu tampon bicarbonat de trietilamoniu (1 M, 5 ml). Amestecul de reacție se agită la temperatura camerei timp de 0,5 h, apoi se concentrează și se coevaporă de două ori cu apă. Reziduu se dizolvă în H₂O (5 ml) și se plasează pe o coloană schimbătoare de ioni, eluare cu H₂O, apoi cu tampon 5...35% bicarbonat de trietilamoniu (1M)-H₂O. Frațiile cu conținut de produs se combină, se concentrează și se coevaporă cu H₂O. Reziduu solid se dizolvă în 3 ml de H₂O și se adaugă 100 μ l de NaOH (1N). Amestecul format se purifică pe coloană C-18, se eluează cu H₂O și fracțiile cu conținut de produs se combină și se concentrează sub presiune redusă, se obține compusul din exemplul 17 (TP5) sub formă de sare de tetrasodiu.

¹H RMN (400 MHz, D₂O): δ 7,74 (s, 1H), 6,89 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 6,81 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 6,00 (dd, $J = 17,4; 11,1$ Hz, 1H), 5,72 (d, $J = 23,3$ Hz, 1H), 5,49 (d, $J = 16,9$ Hz, 1H), 5,32 (d, $J = 11,1$ Hz, 1H), 5,14 (dd, $J = 54,0; 4,6$ Hz, 1H), 4,72 (dd, $J = 23,7; 4,5$ Hz, 1H), 4,09 (dd, $J = 11,3; 5,8$ Hz, 1H), 3,79 (dd, $J = 11,6; 3,8$ Hz, 1H).

³¹P RMN (162 MHz, D₂O): δ -8,38 (d, $J = 20,5$ Hz), -13,67 (d, $J = 19,3$ Hz), -24,20 (t, $J = 19,9$ Hz).

¹⁹F RMN (376 MHz, CDCl₃) δ -194,58 (dt, $J = 55,0; 23,8$ Hz).

SM $m/z = 533,0$ [M-1], 535,0 [M+1].



Exemplul 18 (TP6) - ((2R,3R,4R,5S)-5-(4-aminopirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-etil-4-fluor-3-hidroxitetrahidrofuran-2-il)metil tetrahidrotrifosfat

La o soluție de compus din exemplul 14 (5.0 mg, 0,017 mmol) în PO(OMe)₃ (0,6 ml) la 0°C se adaugă POCl₃ (45 mg, 0,30 mmol). Amestecul de reacție se agită la 0°C timp de 6 h, moment în care CLIP cu schimb de ioni arată aproximativ 90% de conversie. Se adaugă o soluție de săruri de pirofosfat tributilamină (250 mg) în ACN (0,6 ml), apoi tributilamină (110 mg, 0,59 mmol). Amestecul de reacție se agită la 0°C timp de 1 h. Amestecul de reacție se stinge cu tampon bicarbonat de trietilamoniu (1 M, 5 ml). Amestecul de reacție se agită la temperatura camerei timp de 0,5 h, apoi se concentrează și se coevaporă de două ori cu apă. Reziduu se dizolvă în H₂O (5 ml) și se plasează pe o coloană schimbătoare de ioni, se eluează cu H₂O, apoi cu tampon 5-35% bicarbonat de trietilamoniu (1M)-H₂O. Frațiile cu conținut de produs se combină, se concentrează și se coevaporă cu H₂O. Reziduu solid se dizolvă în 3 ml de H₂O și se adaugă 100 μ l de NaOH (1N). Amestecul format se purifică pe coloană C-

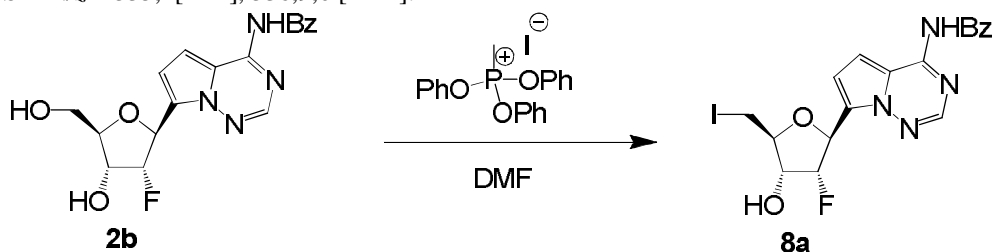
18, se eluează cu H₂O și fracțiile cu conținut de produs se combină și se concentrează sub presiune redusă, se obține 18 (TP6) sub formă de sare de tetra-sodiu.

¹H RMN (400 MHz, D₂O): δ 7,73 (s, 1H), 6,86 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 6,80 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 5,60 (dd, *J* = 21,9; 3,5 Hz, 1H), 5,23 (dt, *J* = 55,2; 4,2 Hz, 1H), 4,65 (dd, *J* = 20,6; 5,3 Hz, 1H), 4,08 – 3,84 (m, 3H), 1,83 (dq, *J* = 14,4; 7,4; 6,9 Hz, 1H), 1,62 (dq, *J* = 15,0; 7,5 Hz, 1H), 0,87 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H).

³¹P RMN (162 MHz, D₂O): -5,72 (d, *J* = 20,2 Hz), -10,81 (d, *J* = 19,3 Hz), -21,60 (t, *J* = 19,8 Hz).

¹⁹F RMN (376 MHz, CDCl₃) δ -194,77 (dt, *J* = 55,2; 21,2 Hz).

SM *m/z* = 535,1[M-1], 536,9,0 [M+1].



10 Compusul intermediar 8a - N-(7-((2S,3R,4R,5S)-3-fluor-4-hidroxi-5-(iodometil)tetrahydrofuran-2-il)pirol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

Intr-un balon, purjat cu argon, se adaugă 2b (68 mg, 0,183 mmol) în DMF (2 ml), apoi iodură de metiltrifenoxifosfoniu (124 mg, 0,274 mmol). Amestecul de reacție se lasă să se agite la temperatura camerei timp de 5 min, timp în care prin LCSM se observă conversia completă a produsului. Amestecul de reacție se stinge cu metanol și solventii se elimină sub presiune redusă. Materialul brut se distribuie între EtOAc și H₂O. Produsele organice se separă și se spală cu soluție salină saturată. Materialul format se usucă deasupra Na₂SO₄, se filtrează și solventul se elimină sub presiune redusă. Materialul brut se purifică prin cromatografie pe silica gel (20...100 % EtOAc/Hexani), se obține compusul intermediar 8a.

20 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,17 (m, 3H), 7,63 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,53 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,17...6,96 (m, 2H), 5,74 (s, 1H), 5,60 (d, *J* = 24,9 Hz, 1H), 5,19 (ddd, *J* = 54,6; 4,5; 2,1 Hz, 1H), 4,09...3,92 (m, 1H), 3,72 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 3,63 (dd, *J* = 11,0; 3,4 Hz, 1H), 3,44 (dd, *J* = 11,0; 5,9 Hz, 1H).

¹⁹F RMN (376 MHz, DMSO-*d*₆) δ -194,23 (m).

25 CL/SM: *t*_R = 1,13 min, SM *m/z* = 483,23 [M+1]

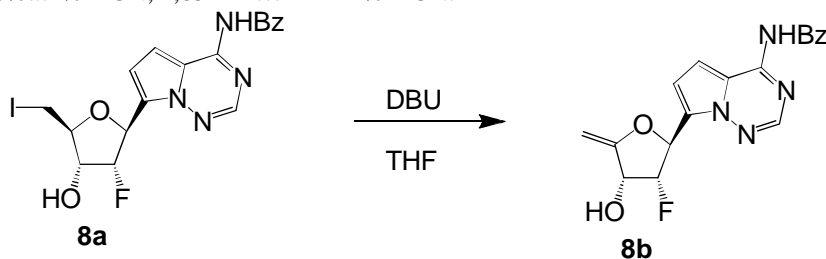
Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm

Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic

Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min

30 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN.



Compusul intermediar 8b - (3R,4R,5S)-5-(4-aminopirol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluor-2-metilentetrahydrofuran-3-ol

35 Compusul intermediar 8a (80 mg, 0,166 mmol) se dizolvă în THF. Într-o porție se adaugă DBU (0,074 ml, 0,498 mmol). Amestecul de reacție apoi se încălzește până la 60°C pe o baie de ulei timp de 16 h. Amestecul de reacție se răcește până la temperatura camerei și solventul se elimină sub presiune redusă. Materialul brut se purifică prin cromatografie pe silica gel (0...70% EtOAc/Hex), se obține compusul intermediar 8b.

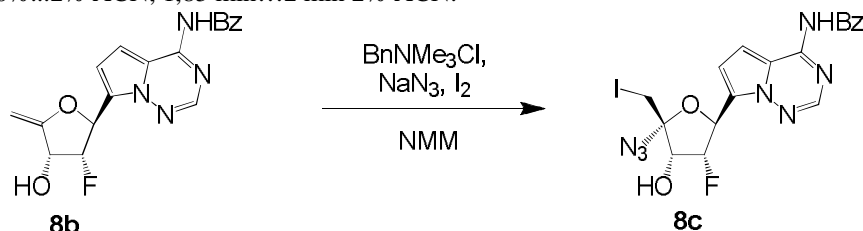
40 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,34...8,05 (m, 3H), 7,63 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,53 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,13 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 6,85 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 5,97...5,82 (m, 2H), 5,39...5,13 (m, 1H), 4,89...4,69 (m, 1H), 4,38 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 4,16 (t, *J* = 1,8 Hz, 1H).

¹⁹F RMN (376 MHz, DMSO-*d*₆) δ -198,14 (ddd, *J* = 53,9; 24,7; 20,9 Hz).

CL/SM: *t*_R = 1,05 min, SM *m/z* = 355,15 [M+1]

Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6 μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm
 Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid formic, Apă cu 0,1% acid formic
 Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN.



5

Compusul intermediar 8c - (2S,3R,4R,5S)-5-(4-aminopirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-azido-4-fluor-2-(iodometil)tetrahidrofuran-3-ol

Clorura de benziltrimetilamoniu (55 mg, 0,296 mmol) și azida de sodiu (19,3 mg, 0,296 mmol) se dizolvă în ACN (1 ml). Amestecul format se agită la temperatura camerei peste noapte și apoi se filtrează și printr-o seringă se adaugă la o soluție de compus intermediar 8b (50 mg, 0,141 mmol) în THF (1 ml). Apoi se adaugă *N*-metilmorfolină (0,078 ml, 0,706 mmol), apoi în picături se adaugă soluție de iod (65 mg, 0,25 mmol) în THF (1 ml). Peste 15 min se adaugă *N*-acetil cisteină până când nu se mai observă eliminarea gazului. Apoi se adaugă o soluție apoasă de tiosulfat de sodiu până soluția devine galben deschisă. Amestecul brut se distribuie între EtOAc și H₂O. Fazele se separă și stratul organic se usucă deasupra sulfatului de sodiu, se filtrează și se concentrează sub presiune redusă. Materialul brut se purifică prin cromatografie pe silica gel (0...60% EtOAc/Hex), se obține compusul intermediar 8c.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,31...8,05 (m, 3H), 7,63 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,53 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,14 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 7,04 (s, 1H), 6,34 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H), 5,80 (d, *J* = 23,7 Hz, 1H), 5,55 – 5,31 (m, 1H), 4,62 (dt, *J* = 21,9; 5,9 Hz, 1H), 3,78...3,56 (m, 2H).

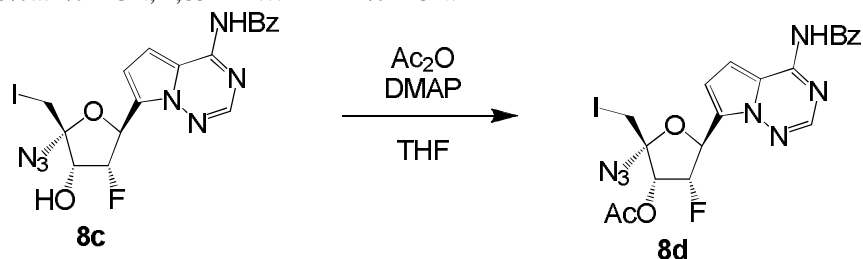
¹⁹F RMN (376 MHz, DMSO-*d*₆) δ -194,44 (dt, *J* = 54,7; 22,8 Hz).

CL/SM: *t*_R = 1,19 min, SM *m/z* = 524,09 [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6 μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm

Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic

Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN.



25

Compusul intermediar 8d – acetat de (2S,3R,4S,5S)-5-(4-aminopirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-azido-4-fluor-2-(iodometil)tetrahidrofuran-3-il

La o soluție de compus intermediar 8c (40 mg, 0,076 mmol) în THF (1ml) la temperatura camerei se adaugă anhidridă acetică (0,009 ml, 0,092 mmol), apoi DMAP (10 mg, 0,082 mmol). Peste 15 min amestecul de reacție se stinge cu metanol și amestecul format se concentrează sub presiune redusă. Produsul brut se purifică prin cromatografie pe silica gel (0...50% EtOAc/Hex), se obține compusul intermediar 8d.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,15...8,02 (m, 3H), 7,62 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H), 7,53 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,44 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 7,00 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 5,95...5,80 (m, 1H), 5,70...5,43 (m, 2H), 3,71 (d, *J* = 11,3 Hz, 1H), 3,60 (d, *J* = 11,3 Hz, 1H), 2,25 (s, 3H).

¹⁹F RMN (376 MHz, CDCl₃) δ -192,78 (ddd, *J* = 55,7; 24,6; 18,5 Hz).

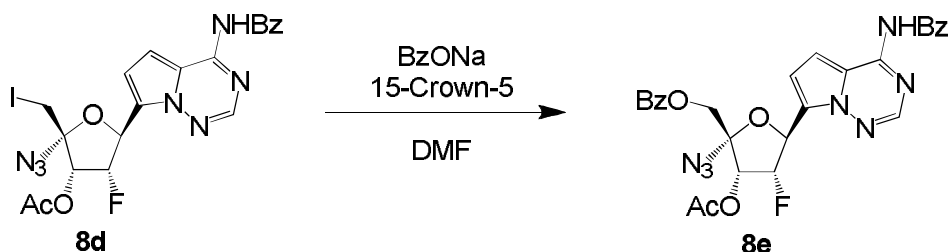
CL/SM: *t*_R = 1,35 min, SM *m/z* = 566,14 [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

40

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6 μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm

Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic

Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN.



Compusul intermediar 8e - ((2R,3R,4S,5S)-3-acetoxi-2-azido-5-(4-benzamidopirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluotetrahidrofuran-2-il)metil benzoat

La o soluție de compus intermediar 8d (30 mg, 0,053 mmol) în DMF (2 ml) la temperatura camerei se adaugă 15-Crown-5 (0,105 ml, 0,531 mmol) și benzoat de sodiu (77 mg, 0,531 mmol). Amestecul de reacție se încălzește apoi până la 105°C. Peste 30 h amestecul de reacție se lasă să ajungă până la temperatura camerei și amestecul se distribuie între 5% LiCl_(ap) și EtOAc. Fazele se separă și faza apoasă se spală cu EtOAc (2 x). Extractele organice combinate se usucă deasupra sulfatului de sodiu și se concentrează sub presiune redusă. Reziduu brut se purifică prin cromatografie pe silica gel (0...60% EtOAc/Hex), se obține compusul intermediar 8e.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,25...7,97 (m, 4H), 7,69...7,40 (m, 6H), 7,36 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 6,95...6,80 (m, 1H), 5,90 (d, *J* = 25,0 Hz, 1H), 5,65 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H), 5,62...5,48 (m, 1H), 4,69 (dd, *J* = 79,3; 12,0 Hz, 2H), 2,20 (s, 3H).

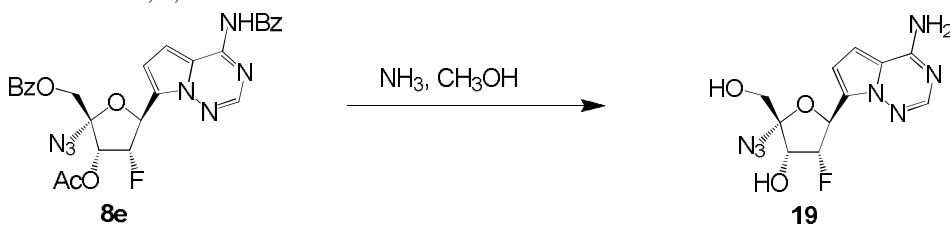
¹⁹F RMN (376 MHz, CDCl₃) δ -192,57 (ddd, *J* = 53,9; 25,1; 22,0 Hz).

CL/SM: t_R = 1,45 min, SM *m/z* = 560,14 [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm

Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic

Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN.



Exemplul 19 - (2R,3R,4R,5S)-5-(4-aminopirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-azido-4-fluor-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ol

La compusul intermediar 8e (24 mg, 0,043 mmol) se adaugă 7N NH₃ în CH₃OH (2 ml) la temperatura camerei. Peste 16 h amestecul format se concentrează sub presiune redusă. Reziduu brut se purifică prin CLÎP cu fază inversă fără modificador acid, se obține compusul din exemplul 19.

¹H RMN (400 MHz, Metanol-*d*₄) δ 7,81 (s, 1H), 6,85 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 6,80 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 5,80 (dd, *J* = 24,7; 1,9 Hz, 1H), 5,22 (ddd, *J* = 55,6; 5,1; 1,9 Hz, 1H), 4,63 (dd, *J* = 22,9; 5,1 Hz, 1H), 3,81 (d, *J* = 12,1 Hz, 1H), 3,70 (d, *J* = 12,2 Hz, 1H).

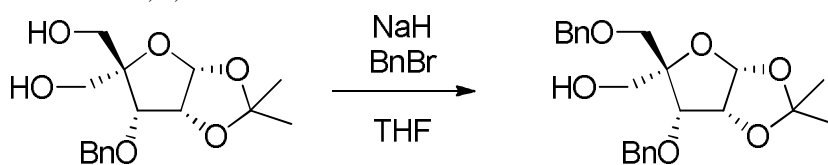
¹⁹F RMN (376 MHz, Metanol-*d*₄) δ -195,30 (ddd, *J* = 55,5; 24,6; 22,9 Hz).

CL/SM: t_R = 0,61 min, SM *m/z* = 310,02 [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm

Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic

Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN.



Compusul intermediar 9b - ((3aR,5R,6S,6aR)-6-(benziloxi)-5-((benziloxi)metil)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)metanol

La o soluție de hidruură de sodiu (60% din greutate, 1,55 g, 38,7 mmol) în THF (100 ml) la 0°C într-o atmosferă de argon se adaugă ((3aR,6S,6aR)-6-(benziloxi)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3-

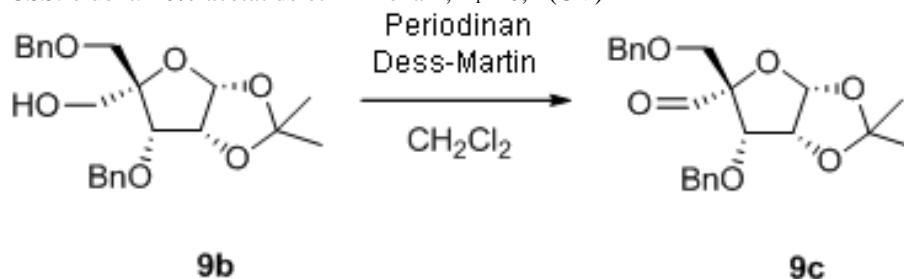
d][1,3]dioxol-5,5-diil)dimetanol (9a, achiziționat de la Carbosinth, 10,0 g, 32,2 mmol). Peste 10 min se adaugă bromură de benzil (4,54 ml, 38,6 mmol) și amestecul de reacție se lasă să se încălzească până la temperatura camerei. Peste 2 h amestecul de reacție se stinge cu soluție apoasă saturată de clorură de amoniu (500 ml). Amestecul format se extrage cu acetat de etil (500 ml). Faza organic se spală apoi cu soluție salină saturată (400 ml), se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează sub presiune redusă, se obține un ulei incolor. Reziduul brut se purifică prin cromatografie pe coloană cu SiO₂ (Coloană 220 g SiO₂ Combiflash HP Gold Column, 0...100% acetat de etil/hexani), se obține compusul intermediar 9a (9,49 g, 73%) sub formă de ulei incolor.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,38...7,19 (m, 10H), 5,68 (app t, *J* = 3,6 Hz, 1H), 4,73 (q, *J* = 4,4 Hz, 1H), 4,63 (d, *J* = 12,1 Hz, 1H), 4,49...4,36 (m, 3H), 4,24 (br s, 1H), 4,20...4,13 (m, 1H), 3,81 (d, *J* = 11,9 Hz, 1H), 3,56 (d, *J* = 11,9 Hz, 1H), 3,46 (q, *J* = 10,3 Hz, 2H), 1,47 (s, 3H), 1,25 (s, 3H).

CL/SM: *t*_R = 1,88 min, SM *m/z* = 423,31 [M+Na]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...2,0 min 2...100% ACN, 2,0 min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%...2% ACN, 3,2 min...3,5 min 2% ACN la 2 μl/min.

CLIP: *t*_R = 3,79 min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.

CSS: eluent: 40% acetat de etil in hexani, *R*_f = 0,4 (UV)



Compusul intermediar 9c - (3aR,5R,6S,6aR)-6-(benziloxi)-5-((benziloxi)metil)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3-d][1,3]dioxol-5-carbaldehidă

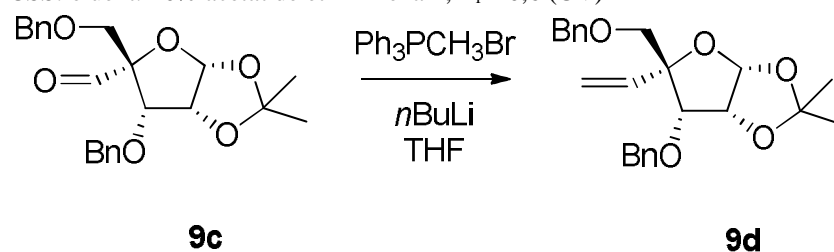
La o soluție de compus intermediar 9b (1,95 g, 4,87 mmol) în diclormetan (24,5 ml) la temperatura camerei se adaugă periodinan Dess-Martin (3,1 g, 7,3 mmol). Peste 1,5 h amestecul de reacție se purifică prin cromatografie pe coloană cu SiO₂ (Coloană 80 g SiO₂ Combiflash HP Gold Column, 0...100% acetat de etil/hexani), se obține compusul intermediar 9c (1,94 g, 100%), sub formă de ulei incolor.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 9,91 (s, 1H), 7,36...7,11 (m, 10H), 5,84 (d, *J* = 3,4 Hz, 1H), 4,71 (d, *J* = 12,1 Hz, 1H), 4,59 (d, *J* = 12,2 Hz, 1H), 4,59...4,58 (m, 1H), 4,52 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 4,46 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 4,37 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 3,68 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H), 3,61 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H), 1,60 (s, 3H), 1,35 (s, 3H).

CL/SM: *t*_R = 1,99 min, SM *m/z* = 421,25 [M+Na]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...2,0 min 2...100% ACN, 2,0 min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%...2% ACN, 3,2 min...3,5 min 2% ACN la 2 μl/min.

CLIP: *t*_R = 4,09 min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.

CSS: eluent: 40% acetat de etil in hexani, *R*_f = 0,6 (UV)



Compusul intermediar 9d - (3aR,5R,6S,6aR)-6-(benziloxi)-5-((benziloxi)metil)-2,2-dimetil-5-viniltetrahidrofuro[2,3-d][1,3]dioxol

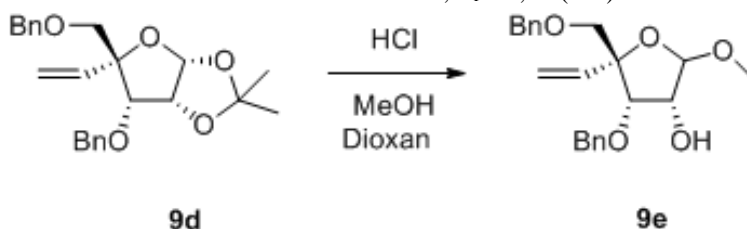
La o soluție de bromură de metiltrifenilfosfoniu (5,38 g, 15,1 mmol) în tetrahidrofuran (20 ml) la -78°C se adaugă 2,5M n-butillitiu (6,02 ml). Amestecul de reacție se lasă să se încălzească până la 0°C și printr-o seringă lent se adaugă soluție de compus intermediar 9c (2,00 g, 5,02 mmol) în tetrahidrofuran (5 ml). Amestecul de reacție se lasă să se încălzească până la temperatura camerei și se agită timp de 4 h. Amestecul de reacție se stinge apoi cu soluție apoasă saturată de clorură de amoniu (10 ml) și se distribuie între apă (200 ml) și acetat de etil (200 ml). Straturile se separă și stratul organic se spală cu soluție salină saturată (200 ml), se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează sub presiune redusă. Rezidul brut se purifică prin cromatografie pe coloană cu SiO₂ (Coloană 120 g SiO₂ Combiflash HP Gold Column, 0...50% acetat de etil/hexani), se obține compusul intermediar 9d (1,01 g, 51%) sub formă de ulei incolor.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,42...7,17 (m, 10H), 6,19 (dd, *J* = 17,6; 11,0 Hz, 1H), 5,76 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H), 5,52 (dd, *J* = 17,5; 1,9 Hz, 1H), 5,25 (dd, *J* = 11,1; 1,8 Hz, 1H), 4,76 (d, *J* = 12,3 Hz, 1H), 4,62...4,55 (m, 2H), 4,52 (d, *J* = 12,1 Hz, 1H), 4,41 (d, *J* = 12,1 Hz, 1H), 4,25 (d, *J* = 4,9 Hz, 1H), 3,32 (d, *J* = 1,5 Hz, 2H), 1,52 (s, 3H), 1,29 (s, 3H)

CL/SM: *t_R* = 2,13 min, SM *m/z* = 419,24 [M+Na]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6μ XB-C18 100A, 50 x 4.6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...2,0 min 2...100% ACN, 2,0 min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%...2% ACN, 3,2 min...3,5 min 2% ACN la 2 μl/min.

CLIP: *t_R* = 4,37 min; Sistemul CLÎP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.

CSS: eluent: 50% acetat de etil în hexani, *R_f* = 0,55 (UV)



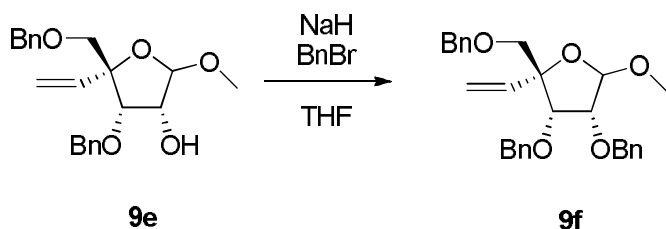
Compusul intermediar 9e - (3R,4S,5R)-4-(benziloxi)-5-((benziloxi)metil)-2-metoxi-5-viniltetrahidrofuran-3-ol

La o soluție de compus intermediar 9d (1,01 g, 2,55 mmol) în metanol (12,5 ml) la temperatura camerei se adaugă 4M HCl în dioxan (320 μl). Peste 1,25 h amestecul de reacție distribuie între acetat de etil (100 ml) și soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (100 ml). Fazele se separă și faza organic se spală cu soluție salină saturată (100 ml), se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează sub presiune redusă, se obține compusul intermediar brut 9e (1,05 g, amestec ~2.5:1 de 1' anomeri) sub formă de ulei incolor.

CL/SM: anomerul principal *t_R* = 2,00 min, SM *m/z* = 393,22 [M+Na], anomerul secundar *t_R* = 1,98 min, SM *m/z* = 393,22 [M+Na]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...2,0 min 2...100% ACN, 2,0 min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%...2% ACN, 3,2 min...3,5 min 2% ACN la 2 μl/min.

CLIP: anomerul principal *t_R* = 4,01 min, anomerul secundar *t_R* = 3,955 min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.

CSS: eluent: 25% acetat de etil în hexani, Anomerul principal *R_f* = 0,30 (UV), Anomerul secundar *R_f* = 0,25 (UV)

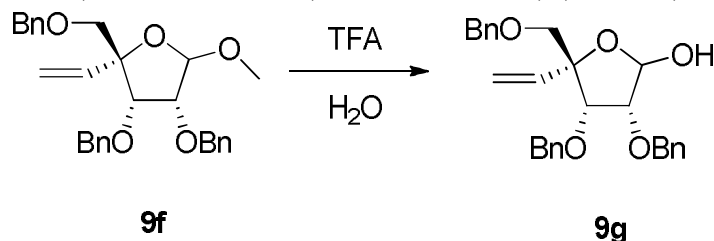


Compusul intermediar 9f - (2R,3S,4R)-3,4-bis(benziloxi)-2-((benziloxi)metil)-5-metoxi-2-viniltetrahidrofuran

La o soluție de compusul intermediar 9e (1,0 g, 2,7 mmol) în THF (13,5 ml) la temperatura camerei intr-o atmosferă de argon se adaugă NaH (60% mas, 130 mg, 3,2 mmol) sub formă de substanță solidă. Peste 15 min se adaugă bromură de benzil (0,38 ml, 3,2 mmol) și amestecul de reacție se agită timp de 4 h. Amestecul de reacție se stinge cu soluție apoasă saturată de clorură de amoniu (5 ml) și se distribuie între acetat de etil (100 ml) și soluție salină saturată (100 ml). Fazele se separă și stratul organic se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează sub presiune redusă, se obține compusul intermediar brut 9f (1,57 g, amestec ~2:1 de 1' anomeri) sub formă de ulei incolor.

CL/SM: anomerul principal $t_R = 1,88$ min, SM $m/z = 483,36$ [M+Na], anomerul secundar $t_R = 1,83$ min, SM $m/z = 483,36$ [M+Na]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...1,5 min 2...100% ACN, 1,5 min...2,2 min 100% ACN, 2,2 min...2,4 min 100%...2% ACN, 2,4 min...2,5 min 2% ACN la 2 μ l/min.

CLIP: anomerul principal $t_R = 4,83$ min, anomerul secundar $t_R = 4,62$ min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5 μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.

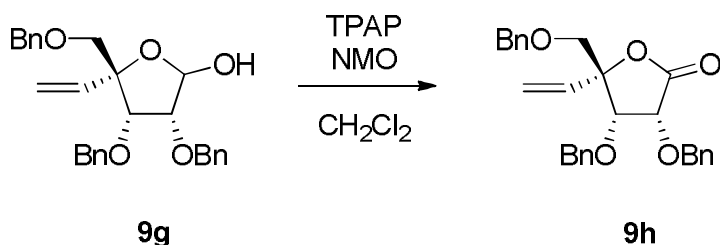


Compusul intermediar 9g - (3R,4S,5R)-3,4-bis(benziloxi)-5-((benziloxi)metil)-5-viniltetrahidrofuran-2-ol

La compusul intermediar 9f (1,5 g, 3,2 mmol) la 0°C se adaugă o soluție de TFA (16 ml) și apă (1,6 ml) și amestecul de reacție se lasă să se încălzească până la temperatura camerei. Peste 9 h se adaugă apă (1 ml) și amestecul de reacție se lasă să se agite încă 10 h. Amestecul de reacție se concentrează apoi sub presiune redusă. Reziduul brut se dizolvă în acetat de etil (200 ml) și se spală cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (2 x 150 ml) și soluție salină saturată (150 ml). Stratul organic se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează sub presiune redusă. Reziduul se purifică prin cromatografie pe coloană cu SiO₂ (Coloană 24 g SiO₂ Combiflash HP Gold Column, 0...100% acetat de etil/hexani). Frațiunile cu conținut de produs dezirabil se combină, se obține compusul intermediar 9g (580 mg) sub formă de ulei incolor, care este în amestec cu alte impurități. Amestecul se utilizează direct în etapa următoare.

CL/SM: $t_R = 3,13$ min, SM $m/z = 463,88$ [M+OH]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...2,0 min 2...100% ACN, 2,0 min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%...2% ACN, 3,2 min...3,5 min 2% ACN la 2 μ l/min.

CLIP: $t_R = 4,34$ min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5 μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.



Compusul intermediar 9h - (3R,4S,5R)-3,4-bis(benziloxi)-5-((benziloxi)metil)-5-vinildihidrofuran-2(3H)-onă

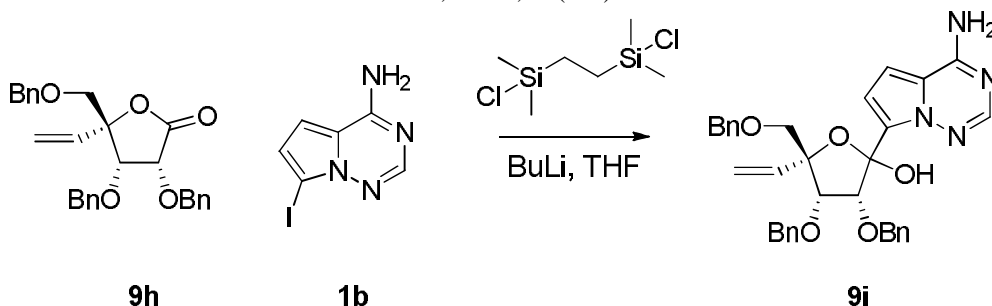
5 La o soluție de compus intermediar 9g (580 mg, 1,30 mmol) și 4A MS (100 mg) in DCM (6,45 ml) la temperatura camerei se adaugă tetrapropilamoniu perutenat (45,7 mg, 130 μ mol) și 4-metilmorfolin *N*-oxid (457 mg, 3,89 mmol). Peste 1 h la amestecul de reacție se adaugă silica gel (~500 mg) și suspensia formată se filtrează printr-un strat de silica gel (~1 g). Filtratul se concentrează sub presiune redusă. Reziduul brut se purifică prin cromatografie pe coloană cu SiO₂ (Coloană 12 g SiO₂ Combiflash HP Gold Column, 0...100% acetat de etil/hexani), se obține compusul intermediar 9h (254 mg, 18% în două etape) sub formă de ulei incolor.

10 ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,38...7,23 (m, 13H), 7,20...7,13 (m, 2H), 5,91 (dd, *J* = 17,5; 11,2 Hz, 1H), 5,49 (dd, *J* = 17,5; 0,9 Hz, 1H), 5,33 (dd, *J* = 11,2; 0,9 Hz, 1H), 4,96 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 4,74...4,68 (m, 2H), 4,55...4,47 (m, 3H), 4,39 (d, *J* = 11,9 Hz, 1H), 4,20 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 3,55 (d, *J* = 10,8 Hz, 1H), 3,46 (d, *J* = 10,8 Hz, 1H)

15 CL/SM: *t_R* = 2,19 min, SM *m/z* = 444,78 [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...2,0 min 2...100% ACN, 2,0 min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%...2% ACN, 3,2 min...3,5 min 2% ACN la 2 μ l/min.

20 CLIP: *t_R* = 4,53 min; Sistemul CLÎP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5 μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: Acetonitril cu 0,1% TFA, Apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.

CSS: eluent: 25% acetat de etil in hexani, *R_f* = 0,45 (UV)



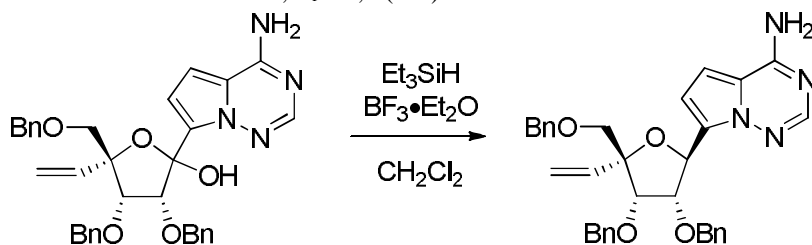
25 Compusul intermediar 9i - (3R,4S,5R)-2-(4-aminopirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-bis(benziloxi)-5-((benziloxi)metil)-5-viniltetrahidrofuran-2-ol

30 La o suspensie de compus intermediar 1b (0,21 g, 0,81 mmol) și 1,2-bis(chlorodimetilsilil)etan (0,17 g, 0,81 mmol) in THF (4 ml) la -78°C într-o atmosferă de argon se adaugă rapid *n*-butillitiu (2,5M in hexani, 1,0 ml, 2,5 mmol). Amestecul format se transfer apoi printr-o canulă într-o soluție de 9h (0,18 g, 0,41 mmol) in THF (1 ml) la -78°C într-o atmosferă de argon. Peste 20 min amestecul de reacție se lasă să se încălzească până la 0°C și se agită timp de 15 min. Amestecul de reacție se stinge cu soluție apoasă saturată de clorură de amoniu (1 ml). Amestecul format se diluează cu acetat de etil (100 ml) și se spală cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (100 ml) și soluție salină saturată (100 ml). Stratul organic se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează sub presiune redusă. Reziduul brut se purifică prin cromatografie pe coloană cu SiO₂ (Coloană 12 g SiO₂ Combiflash HP Gold Column, 0...100% acetat de etil/hexani), se obține compusul intermediar 9i (11,1 mg, 5%, amestec de izomeri) sub formă de ulei incolor.

35 CL/SM: *t_R* = 1,97 min, SM *m/z* = 579,27 [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...2,0 min 2...100% ACN, 2,0 min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%...2% ACN, 3,2 min...3,5 min 2% ACN la 2 μ l/min.

CLIP: $t_R = 3,37$ min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.

CSS: eluent: acetat de etil, $R_f = 0,3$ (UV)



9i

9j

5

Compusul intermediar 9j - 7-((2S,3S,4S,5R)-3,4-bis(benziloxi)-5-((benziloxi)metil)-5-viniltetrahidrofuran-2-il)pirol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amină

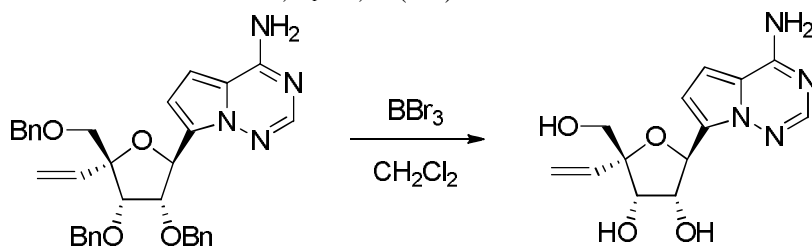
La o soluție de compus intermediar 9i (11,0 mg, 19,0 μ mol) și trietilsilan (0,5 ml) în DCM (1 ml) la 0°C într-o atmosferă de argon se adaugă lent trifluorură de bor-dietil eterat (0,1 ml). Peste 1 h amestecul de reacție se diluează lent cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (10 ml) și amestecul format se extrage cu acetat de etil (2 x 10 ml), se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează sub presiune redusă. Reziduul brut se purifică prin cromatografie pe coloană cu SiO_2 (4 g SiO_2 Combiflash HP Gold Column, 0...100% acetat de etil/hexani), se obține compusul intermediar 9j (7,7 mg, 72%) sub formă de peliculă incoloră.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,87 (s, 1H), 7,37 – 7,17 (m, 15H), 6,73 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 6,51 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 6,23 (dd, $J = 17,5$; 10,9 Hz, 1H), 5,70 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H), 5,59 (dd, $J = 17,5$; 1,8 Hz, 1H), 5,32 (dd, $J = 10,9$; 1,7 Hz, 1H), 4,72...4,56 (m, 4H), 4,49 (d, $J = 11,9$ Hz, 2H), 4,43 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,25 (dd, $J = 5,6$; 4,0 Hz, 1H), 3,56 (s, 2H).

CL/SM: $t_R = 2,32$ min, SM $m/z = 563,33$ [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min-2,0 min 2-100% ACN, 2,0 min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%...2% ACN, 3,2 min...3,5 min 2% ACN la 2 μ l/min.

CLIP: $t_R = 3,51$ min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.

CSS: eluent: acetat de etil, $R_f = 0,40$ (UV)



9j

20

Exemplul 20 - (2R,3S,4R,5S)-5-(4-aminopirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-(hidroximetil)-2-viniltetrahidrofuran-3,4-diol

La o soluție de compusul intermediar 9j (7,7 mg, 13,7 μ mol) în diclormetan (1 ml) la -78°C într-o atmosferă de argon se adaugă în picături tribromură de bor (1M, 0,06 ml, 60 μ mol). Peste 1 h amestecul de reacție se lasă să se încălzească până la 0°C și se agită adițional 1,5 h. Amestecul de reacție se răcește până la -78°C și se stinge cu o soluție 2:1 de metanol/piridină (1,5 ml). Amestecul format se lasă să se încălzească până la temperatura camerei și se concentrează sub presiune redusă. Reziduul brut se purifică prin CLIP preparativă (Phenomex Sinergi 4 μ Hidro-RR 80Å, Coloană 150 x 30 mm, 0...100% Acetonitril/apă gradient), se obține compusul din exemplul 20 (0,5 mg, 13%) sub formă de substanță solidă albă.

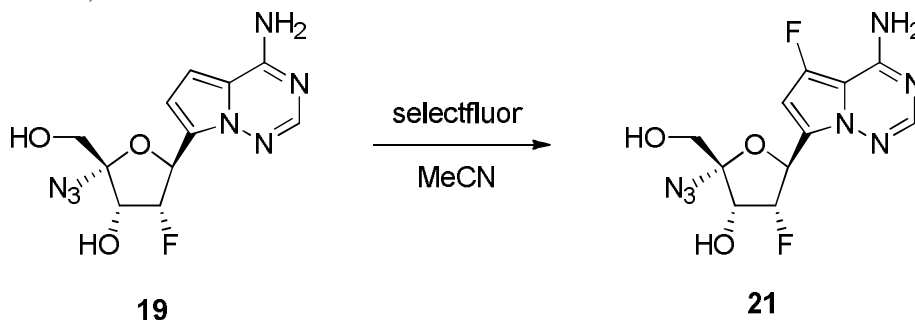
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,78 (s, 1H), 6,88 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 6,76 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 6,02 (dd, $J = 17,4$; 11,0 Hz, 1H), 5,47 (dd, $J = 17,4$; 2,0 Hz, 1H), 5,23 (dd, $J = 10,9$; 2,1 Hz, 1H), 5,15 (d, $J =$

40

8,3 Hz, 1H), 4,72 (dd, $J = 8,2; 5,7$ Hz, 1H), 4,34 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H), 3,60 (d, $J = 11,8$ Hz, 1H), 3,49 (d, $J = 11,8$ Hz, 1H)

CL/SM: $t_R = 0,84$ min, SM $m/z = 293,19$ [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...1,5 min 2...100% ACN, 1,5 min...2,2 min 100% ACN, 2,2 min...2,4 min 100%...2% ACN, 2,4 min...2,5 min 2% ACN la 2 μ l/min.

CLIP: $t_R = 2,181$ min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5 μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.



10

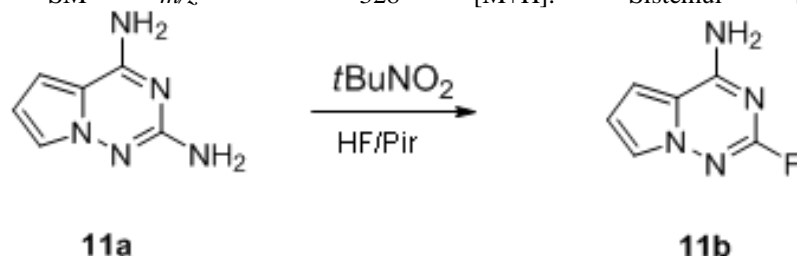
Exemplul 21 - (2R,3R,4R,5S)-5-(4-amino-5-fluoropirol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-azido-4-fluor-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ol

Compusul din exemplul 19 (237 mg, 0,766 mmol) și Selectfluor (407 mg, 1,15 mmol) se suspendează în acetonitril (5 ml) și se adaugă AcOH (0,2 ml). Amestecul format se agită la temperatura camerei timp de 30 min și apoi se neutralizează cu soluție de bicarbonat de sodiu și se filtrează pentru eliminarea substanțelor solide. După concentrare în vid, reziduul se purifică prin CLIP preparativă (acetonitril de la 0 până la 30% în apă), se obține compusul din exemplul 21 (27 mg, 11%) sub formă de substanță solidă aproape albă.

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,73 (s, 1H), 6,63 (s, 1H), 5,80 (dd, $J = 23,9; 1,7$ Hz, 1H), 5,16 (ddd, $J = 55,3; 5,0; 1,7$ Hz, 1H), 4,56 (dd, $J = 23,5; 5,0$ Hz, 1H), 3,94...3,60 (m, 2H)

^{19}F RMN (376 MHz, CD_3OD) δ -161,76 (s), -195,42 (d, $J = 55,4$ Hz)

SM $m/z = 328$ [M+H]. Sistemul SM: Thermo LCQ



Compusul intermediar 11b - 2-fluoropirol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amină

Compusul intermediar 11a (2,0 g, 13,4 mmol) se plasează într-un vas polyTube. Vasul de reacție se plasează apoi într-o baie de gheață și succesiv se adaugă 70% HF/Pir (18 ml) și piridină (9 ml). Apoi imediat după adăția piridinei, timp de 20 min se adaugă lent $t\text{BuNO}_2$ (2,07 ml, 17,43 mmol). Soluția din cafeniu-galbenă devine întunecată cu eliminarea căldurii și formarea gazului. Amestecul de reacție apoi se agită timp de încă 20 min și amestecul de reacție se diluează apoi cu apă și se concentrează sub presiune redusă. Reziduul brut se distribuie între acetat de etil și apă. Produsele organice se separă și stratul apos se spală cu acetat de etil de trei ori. Produsele organice se combină și se spală cu soluție salină saturată. Produsul brut se usucă deasupra Na_2SO_4 , se filtrează și solvenții se elimină sub presiune redusă. Reziduul brut se purifică prin cromatografie pe silica gel (50...100% EtOAc/Hex), se obține compusul intermediar 11b (1,68 g, 82%) sub formă de substanță solidă de culoare galben-cafenie.

^1H RMN (400 MHz, $\text{DSMO}-d_6$) δ 8,49...8,09 (m, 2H), 7,58 (t, $J = 2,0$ Hz, 1H), 6,95 (d, $J = 4,5; 1,7$ Hz, 1H), 6,59 (d, $J = 4,5; 1,7$ Hz, 1H).

^{19}F RMN (376 MHz, $\text{DSMO}-d_6$) δ -73,42 (s).

CL/SM: $t_R = 1,03$ min, SM $m/z = 153,08$ [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți:

acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic ; Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN la 1,8 ml/min.



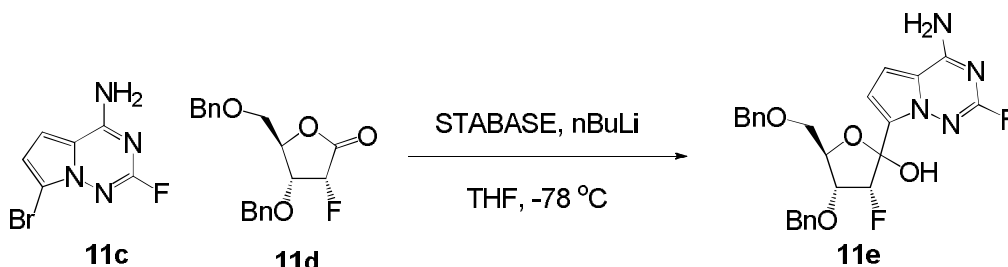
5 Compusul intermediar 11c - 7-brom-2-fluoropirol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amină

O soluție de compus intermediar 11b (3,36 g, 22,1 mmol) în DMF (50 ml) se răcește până la 0°C într-o baie de gheață. Cu o pâlnie picurătoare timp de 40 min se adaugă în picături o soluție de 1,3-dibrom-5,5-dimetilhidantoină (3,16 g, 11,0 mmol) în DMF (50 ml). Peste 1 h amestecul de reacție se stinge cu Na₂S₂O_{3(ap)} saturat și produsul brut se distribuie între EtOAc și 5% LiCl_(ap). Produsele organice se extrag cu 5% LiCl_(ap) (4 x), apoi cu soluție salină saturată. Produsele organice se usucă deasupra Na₂SO₄, produsele solide se elimină prin filtrare și filtratul se concentrează sub presiune redusă. Reziduul brut se dispersează cu ultrasunet în CH₂Cl₂ și substanțele solide se colectează prin filtrare și se usucă în vid înalt, se obține compusul intermediar 11c (3,93 g, 77%) sub formă de substanță solidă galbenă.

15 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,49...8,44 (m, 2H), 7,08 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 6,76 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H).

¹⁹F RMN (376 MHz, DMSO-*d*₆) δ -71,45 (s).

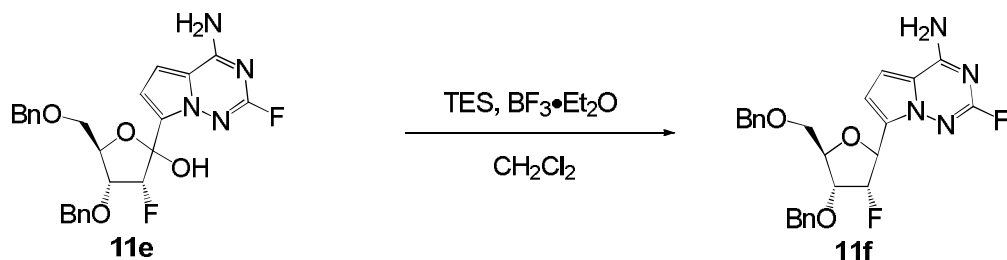
20 CL/SM: t_R = 1,22 min, SM *m/z* = 232,98 [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic ; Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN la 1,8 ml/min.



25 Compusul intermediar 11e - (3R,4R,5R)-2-(4-amino-2-fluoropirol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-(benziloxi)-5-((benziloxi)metil)-3-flortetrahidrofuran-2-ol

30 La o soluție de 11c (2,09 g, 9,08 mmol) în THF (30 ml) se adaugă într-o porție 1,2-bis(clordimetilsilil)etan (STABASE, 1,96 g, 9,08 mmol) și amestecul format se lasă să se agite la temperatură ambiantă timp de 1 h. Apoi amestecul de reacție se răcește până la -78°C utilizând o baie cu gheață uscată în metanol. Se adaugă *n*BuLi (2,5M în hexani, 10,9 ml, 27,2 mmol), menținând temperatura internă de -65°C. Apoi la amestecul de reacție timp de 1 min se adaugă o soluție de compus intermediar 11d (preparată printr-o metodă cunoscută [13], 2,5 g, 7,5 mmol) în THF (25 ml). Peste 5 min amestecul de reacție se stinge cu acid acetic și se lasă să revină la temperatura ambiantă. Solvenți se elimină sub presiune redusă și reziduul se tratează cu acetat de etil. Produsele organice se spală cu apă, apoi cu soluție salină saturată. Straturile se separă și produsele organice se usucă deasupra Na₂SO₄, se filtrează și se concentrează sub presiune redusă, se obține compusul intermediar brut 11e sub formă de amestec de izomeri, care se utilizează ca atare în etapa următoare.

35 CL/SM: t_R = 1,32 și 1,40 min, SM *m/z* = 483,15 [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic ; Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN la 1,8 ml/min.

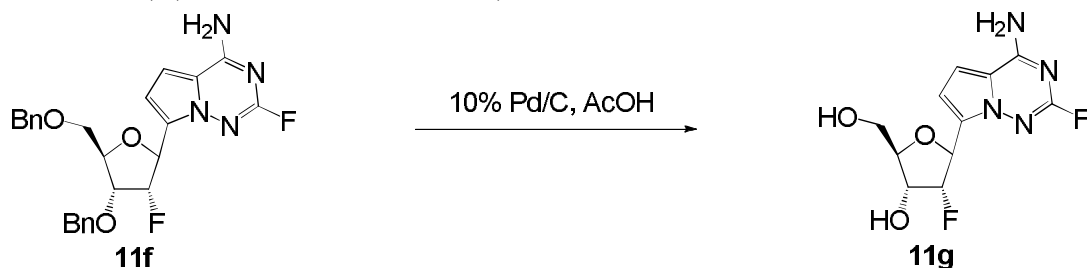


Compusul intermediar 11f - 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benziloxi)-5-((benziloxi)metil)-3-fluortetrahidrofuran-2-il)-2-fluorpirol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amină

5 Compusul intermediar 11e (1,99 g, 3,72 mmol) se dizolvă în CH_2Cl_2 (80 ml) și la amestec se adaugă TES (4,75 ml, 29,7 mmol). Amestecul de reacție se răcește până la 0°C și se adaugă lent $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1,07 ml, 4,09 mmol). Peste 15 min amestecul de reacție se stinge cu $\text{NaHCO}_3(\text{ap})$ saturat și straturile se separă. Stratul apos se spală cu CH_2Cl_2 . Produsele organice se combină și se spală cu $\text{NaHCO}_3(\text{ap})$ saturat. Produsele organice se usucă deasupra Na_2SO_4 , se filtrează și se concentrează sub presiune redusă. Produsul brut se purifică prin cromatografie pe silica gel (0...60% EtOAc/Hex), se obține compusul intermediar 11f (1,12 g, 64%, amestec 2:1 de 1' anomeri).

10 CL/SM: $t_R = 1,55$ min, SM $m/z = 467,47$ [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic ;

15 Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN la 1,8 ml/min.

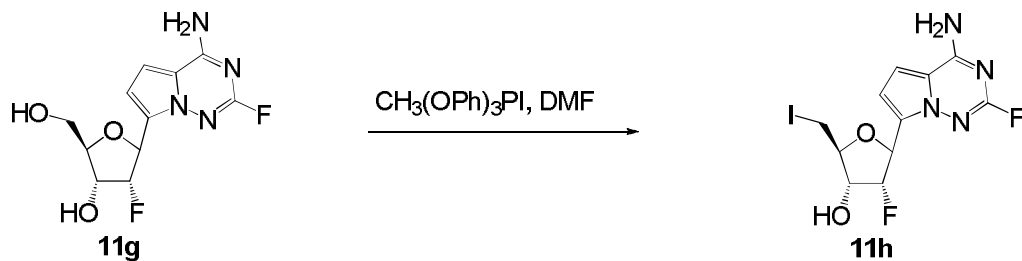


Compusul intermediar 11g - (2R,3R,4R,5S)-5-(4-amino-2-fluorpirol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluor-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ol

20 Compusul intermediar 11f (0,82 g, 1,76 mmol) se dizolvă în acid acetic (25 ml). Vasul de reacție se purjează cu argon și se adaugă 10% Pd/C (468 mg, 0,439 mmol). Vasul se evacuează și se umple cu $\text{H}_2(\text{gaz})$ (3 x). Peste 1 h vasul de reacție se purjează cu azot. Amestecul format se filtrează printr-un strat de celite și stratul de pe filtru se spală cu CH_3OH . Filtratul se concentrează sub presiune redusă și apoi se coevaporă cu acetat de etil, apoi cu hexan, se obține compusul intermediar 11g (503 mg, 98%, amestec 2:1 de 1' anomeri).

25 CL/SM: $t_R = 0,81$ min, SM $m/z = 286,97$ [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic ; Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN la 1,8 ml/min.

30



Compusul intermediar 11h - (2S,3R,4R,5S)-5-(4-amino-2-fluorpirol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluor-2-(iodometil)tetrahidrofuran-3-ol

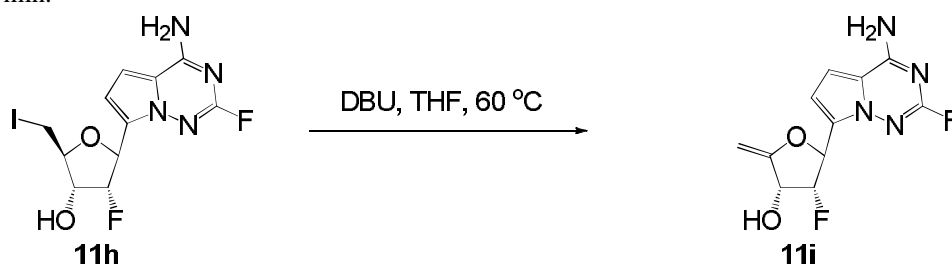
35 Intr-un balon, purjat cu argon, se adaugă o soluție de 11g (283 mg, 0,989 mmol) în DMF (10 ml), apoi o soluție de iodură de metil trifenoxifosfoniu (0,536 g, 1,19 mmol) în 4 ml DMF. Amestecul de reacție se lasă să se agite la 0°C timp de 10 min și apoi se încălzește până la temperatura ambientală.

Peste 30 min amestecul de reacție se stinge cu $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3(\text{ap})$ saturat. Materialul brut se distribuie între EtOAc și 5% $\text{LiCl}(\text{ap})$. Produsele organice se separă și se spală cu soluție salină saturată. Produsele organice se usucă deasupra Na_2SO_4 , se filtrează și se concentrează sub presiune redusă. Reziduul brut se tratează cu ACN și se purifică prin CLÎP fără modificator acid, se obține compusul intermediar 11h

5

CL/SM: $t_R = 1,08$ min, SM $m/z = 397,12$ [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic ; Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN la 1,8

10



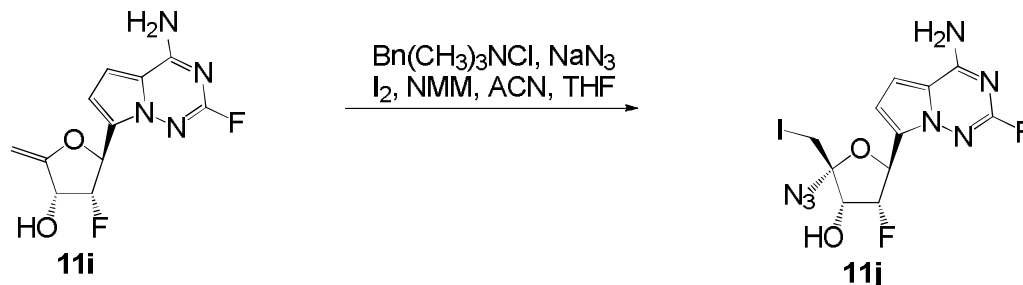
Compusul intermediar 11i - (3R,4R,5S)-5-(4-amino-2-fluorpirol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-4-fluor-2-metilenetetrahydrofuran-3-ol

15

La o soluție de 11h (356 mg, 0,899 mmol) în THF (8 ml) se adaugă DBU (0,403 ml, 2,70 mmol) și amestecul format se încălzește până la 60°C. Peste 3 h amestecul de reacție se concentrează sub presiune redusă. Reziduul brut se purifică prin cromatografie pe silica gel (40...100% EtOAc/Hex), se obține compusul intermediar 11i (201 mg, 83%, amestec 2:1 de 1' anomeri) sub formă de substanță solidă albă.

20

CL/SM: $t_R = 1,04$ min, SM $m/z = 269,14$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic ; Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN la 1,8 ml/min.



25

Compusul intermediar 11j - (2S,3R,4R,5S)-5-(4-amino-2-fluorpirol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-2-azido-4-fluor-3-iodometil)tetrahydrofuran-3-ol

30

Clorura de benziltrimetilamoniu (292 mg, 1,57 mmol) și azida de sodiu (102 mg, 1,57 mmol) se dizolvă în ACN (4 ml) și amestecul format se agită la temperatura ambientală timp de 4 h. Amestecul se filtrează și filtratul se adaugă la o soluție de 11i (0,201 g, 0,749 mmol) în THF (4 ml). Se adaugă NMM (0,412 ml, 3,75 mmol), apoi în picături se adaugă o soluție de iod (0,342 g, 1,35 mmol) în THF (4ml). Peste 15 min se adaugă în porții N-acetil cisteină până nu se observă eliminarea gazului. Se adaugă $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3(\text{ap})$ saturată până soluția devine galben-deschisă. Amestecul format se distribuie între apă și acetat de etil. Straturile se separă și stratul organic se usucă deasupra Na_2SO_4 , se filtrează și se concentrează sub presiune redusă. Reziduul brut se purifică prin cromatografie pe silica gel (20...100% EtOAc/Hex), se obține compusul intermediar 11j (183 mg, 56%) sub formă de un singur izomer.

35

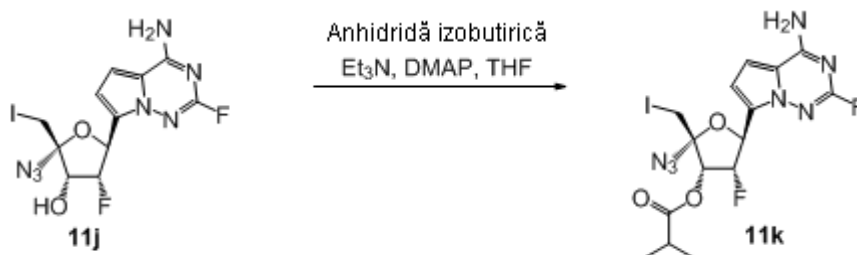
^1H RMN (400 MHz, $\text{DSMO}-d_6$) δ 8,44 (d, $J = 28,6$ Hz, 2H), 6,98 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 6,79 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 6,32 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 5,60 (dd, $J = 23,8, 2,5$ Hz, 1H), 5,36 (ddd, $J = 54,9; 5,0; 2,6$ Hz, 1H), 4,60 (ddd, $J = 21,5; 6,9; 5,0$ Hz, 1H), 3,63 (ABq, $\Delta\delta = 0,09\text{ppm}$, $J = 8\text{Hz}$, 2H).

40

^{19}F RMN (376 MHz, $\text{DSMO}-d_6$) δ -71,74 (s), -194,57 (ddd, $J = 54,9; 24,0; 21,7$ Hz)

CL/SM: $t_R = 1,71$ min, SM $m/z = 437,93$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic ; Gradient: 0 min...2,4 min 2...100% ACN,

2,4 min...2,80 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3,0 min 2% ACN la 1,8 ml/min.



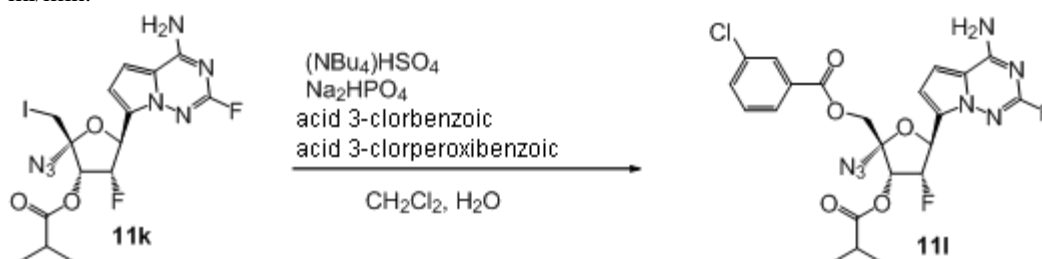
5 Compusul intermediar 11k - (2S,3R,4S,5S)-5-(4-amino-2-fluorpirol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-azido-4-fluor-2-(iodometil)tetrahidrofuran-3-il izobutirat

La o soluție de 11j (0,183 g, 0,419 mmol) în THF (10 ml) se adaugă anhidridă izobutirică (0,083 ml, 0,502 mmol), TEA (0,118 ml, 0,837 mmol) și DMAP (10 mg, 0,084 mmol). Amestecul de reacție se lasă să se agite la temperatura ambientală timp de 15 min și amestecul de reacție se stinge cu CH₃OH.
10 Amestecul de reacție se concentrează sub presiune redusă și reziduul brut se purifică prin cromatografie pe silica gel (0...50% EtOAc/Hex), se obține compusul intermediar 11k (0,198 g, 93%) sub formă de substanță solidă albă.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,48 (d, *J* = 30,7 Hz, 2H), 6,99 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 6,84 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 5,77...5,47 (m, 3H), 3,69 (ABq, Δδ = 0,05ppm, *J* = 12 Hz, 2H), 2,70 (p, *J* = 7,0 Hz, 1H),
15 1,24...1,05 (d, *J* = 7,0 Hz, 6H).

¹⁹F RMN (376 MHz, DMSO-*d*₆) δ -71,58 (s), -194,89 (ddd, *J* = 55,0; 24,3; 16,8 Hz).

CL/SM: *t*_R = 1,56 min, SM *m/z* = 508,13 [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic ; Gradient: 0 min...2,4 min 2...100% ACN,
20 2,4 min...2,80 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3,0 min 2% ACN la 1,8 ml/min.



Compusul intermediar 11l - ((2R,3R,4S,5S)-5-(4-amino-2-fluorpirol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-azido-4-fluor-3-(izobutiriloxi)tetrahidrofuran-2-il)metil-3-clorbenzoat

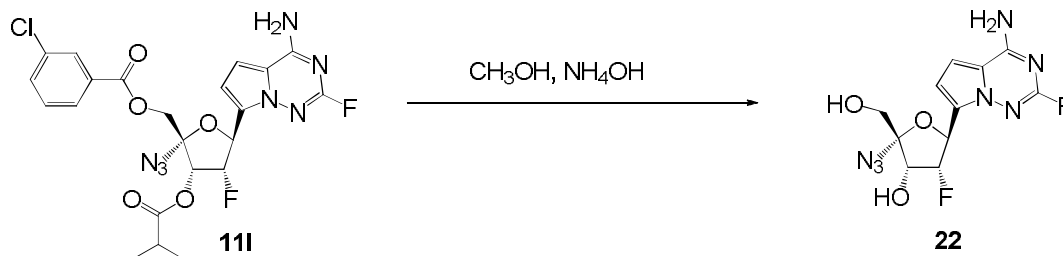
25 Compusul intermediar 11k (0,153 g, 0,302 mmol) se dizolvă în CH₂Cl₂ (10 ml) și H₂O (6 ml). Se adaugă succesiv fosfat de potasiu dibazic (0,138 g, 0,603 mmol), bisulfat de tetrabutilamoniu (0,210 g, 0,618 mmol) și acid 3-clorbenzoic (0,097 g, 0,618 mmol). Amestecul format se răcește până la 0°C și se adaugă MCPBA (0,203 g, 0,905 mmol). Amestecul de reacție se lasă să se încălzească până la temperatura ambientală și se agită timp de 16 h. Amestecul de reacție se stinge cu Na₂S₂O_{3(ap)} saturat și
30 se concentrează sub presiune redusă. Reziduul apos brut se diluează cu ACN și se purifică prin CLÎP preparativă fără modificator acid, se obține compusul intermediar 11l (20 mg, 13%) sub formă de substanță solidă albă.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,46 (d, *J* = 26,4 Hz, 2H), 7,96...7,81 (m, 2H), 7,81...7,66 (m, 1H), 7,62...7,46 (m, 1H), 6,94 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 6,80 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 5,73 (s, 3H), 4,60 (ABq, Δδ = 0,08ppm, *J* = 12 Hz, 2H), 2,66 (p, *J* = 7,0 Hz, 1H), 1,20...1,01 (m, 6H).

¹⁹F RMN (376 MHz, DMSO-*d*₆) δ = -71,45 (s), -193,41 (ddd, *J* = 54,4; 25,4; 21,2 Hz).

CL/SM: *t*_R = 2,22 min, SM *m/z* = 536,17 [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic ; Gradient: 0 min...2,4 min 2...100% ACN,

2,4 min...2,80 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3,0 min 2% ACN la 1,8 ml/min.



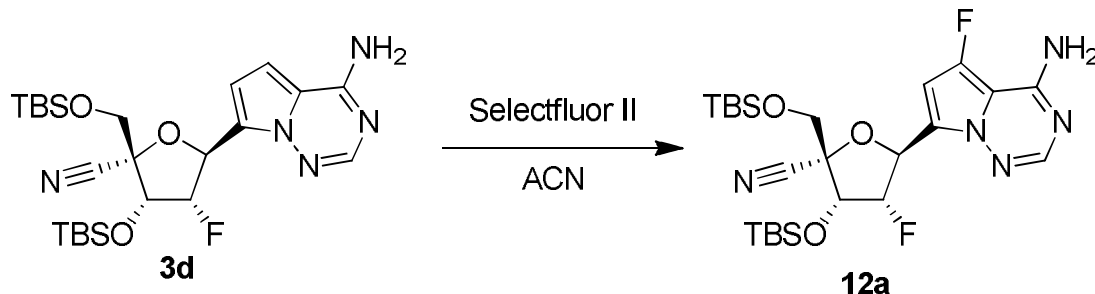
5 Exemplul 22 - (2R,3R,4R,5S)-5-(4-amino-2-fluorpirol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-azido-4-fluor-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ol

La o soluție de compus intermediar 111 (22 mg, 0,041 mmol) în CH₃OH (1 ml) la temperatura camerei se adaugă NH₄OH concentrat (1 ml). Peste 30 min amestecul de reacție se concentrează sub presiune redusă. Reziduu brut se diluează cu o cantitate minimă de H₂O și se purifică prin CLIP preparativă fără modificator, se obține exemplul 22 (10 mg, 77%) sub formă de substanță solidă albă.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,40 (d, *J* = 30,9 Hz, 2H), 6,95 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 6,78 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 5,89 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 5,61 (dd, *J* = 23,8; 2,1 Hz, 1H), 5,44 (t, *J* = 6,1 Hz, 1H), 5,18 (ddd, *J* = 55,3; 5,1; 2,2 Hz, 1H), 4,44 (ddd, *J* = 23,7; 7,5; 5,0 Hz, 1H), 3,59 (ddd, *J* = 48,5; 12,0; 6,1 Hz, 2H).

15 ¹⁹F RMN (376 MHz, DMSO-*d*₆) δ -71,18 (s), -193,48 (dt, *J* = 55,3; 23,8 Hz).

CL/SM: *t*_R = 1,13 min, SM *m/z* = 327,86 [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic; Gradient: 0 min...2,4 min 2...100% ACN, 2,4 min...2,80 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3,0 min 2% ACN la 20 1,8 ml/min.



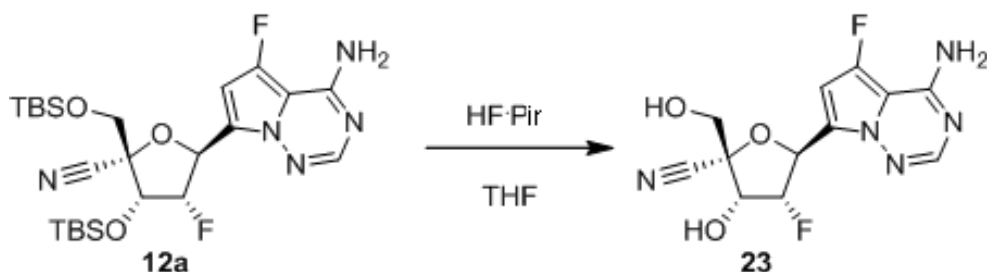
Compusul intermediar 12a - (2R,3R,4S,5S)-5-(4-amino-5-fluorpirol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3-((terț-butildimetilsilil)oxi)-2-(((terț-butildimetilsilil)oxi)metil)-4-fluortetrahidrofuran-2-carbonitril

25 La o soluție de compus intermediar 3d (57 mg, 0,109 mmol) în ACN (3 ml) într-o porție se adaugă Selectfluor II (52 mg, 0,164 mmol). Peste 1,5 h amestecul de reacție se stinge prin adăuția NaHCO_{3(ap)} saturat. Se adaugă acetat de etil (4ml) și amestecul bifazic se agită viguros timp de 5 min. Amestecul de reacție se diluează apoi cu EtOAc și NaHCO_{3(ap)} saturat. Straturile se separă și faza organică se extrage cu apă și apoi cu soluție salină saturată. Stratul organic se usucă deasupra Na₂SO₄. Agentul de uscare se elimină prin filtrare în vid și filtratul se concentrează sub presiune redusă. Compusul intermediar 12a (11 mg, 18,7 %) se izolează din materialul crud concentrate prin cromatografie pe coloană cu silica gel utilizând gradientul următor al eluenților: 0% EtOAc în hexani majorând până la 70% EtOAc în hexani, majorând rapid până la 100% EtOAc după ce produsul inițial a fost eluat de pe coloană.

35 ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,72 (s, 1H), 7,55 (s, 1H), 5,65 (dd, *J* = 24,8; 2,4 Hz, 1H), 5,38 (dq, *J* = 54,4; 2 Hz, 1H), 4,88 (dd, *J* = 19,2; 4,4 Hz, 1H), 3,96 (ABq, □□_{AB} = 0,141ppm, *J* = 11 Hz, 2H), 0,99 (s, 9H), 0,86 (s, 9H), 0,21 (s, 6H), 0,07 (s, 3H), -0,02 (s, 3H).

¹⁹F RMN (376 MHz, CD₃OD) δ -161,795 (s), -194,806 (ddd, *J* = 54,5; 19,2; 18,8 Hz).

40 CL/SM: *t*_R = 2,06 min, SM *m/z* = 540,64 [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic ; Gradient: 0 min...2,4 min 2...100% ACN, 2,4 min...2,8 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3 min 2% ACN.



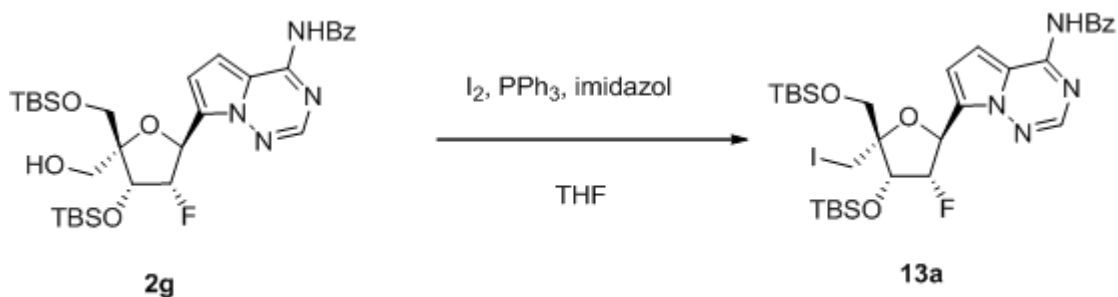
Exemplul 23 - (2R,3R,4R,5S)-5-(4-amino-5-fluoropirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluor-3-hidroxi-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-carbonitril

La o soluție de compus intermediar 12a (29 mg, 0,054 mmol) în THF (2 ml) într-o eprubetă de polipropilenă se adaugă 70% HF-piridină în piridină (51 μ l, 1,97 mmol) la 0°C într-o atmosferă de N₂. Peste 1,5 h amestecul de reacție se îndepărtează de pe baia de gheață. O cantitate suplimentară de 70% HF-piridină în piridină (150 μ l) se adaugă peste 3 h, peste 5 h 45 min (200 μ l) și peste 21 h 15 min (0,7 ml). Amestecul de reacție se agită apoi timp de încă 24 h, moment în care amestecul de reacție se răcește pe o baie de gheață și apoi se stinge cu apă și NaHCO_{3(ap)} saturat. Amestecul se concentrează sub presiune redusă și reziduul se introduce în DMF. Soluția/suspensia formată se filtrează printr-un filtru seringă (Whatman 0,45 μ m PTFE w/GMF). Filtratul se injectează pe coloana de CLÎP și produsul semi-purificat ulterior se purifică prin cromatografie pe coloană cu silica gel utilizând următorul gradient al solvenților: 0% MeOH în DCM, majorând până la 20% MeOH în DCM. Frațiile cu conținut de produs se concentrează și reziduul se liofilizează, se obține compusul din exemplul 23 (5 mg, 30%) sub formă de pulbere de culoare albă.

¹H RMN (400 MHz, DMF-*d*₇) δ 7,74 (s, 1H), 6,61 (s, 1H), 5,75 (dd, *J* = 25,2; 1,6 Hz, 1H), 5,23 (ddd, *J* = 54,8; 4,8; 1,6 Hz, 1H), 4,64 (dd, *J* = 22; 4,4 Hz, 1H), 3,90 (ABq, $\Delta\delta_{AB}$ = 0,151 ppm, *J* = 12 Hz, 2H).

¹⁹F RMN (376 MHz, DMF-*d*₇) δ -161,727 (s), -193,726 (ddd, *J* = 54,5; 22,9; 21,8 Hz).

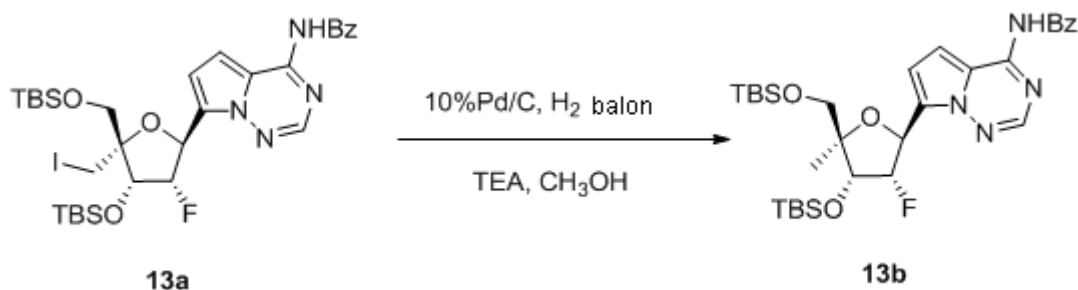
CL/SM: Temperatura camerei = 0,81 min, SM *m/z* = 312,13 [M+1]; LC: Thermo Accela 1250 SCLÎP; SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ C18 100Å, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic; Gradient: 0 min...2,4 min 2...100% ACN, 2,4 min...2,8 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3 min 2% ACN.



Compusul intermediar 13a - N-(7-((2S,3S,4R,5R)-4-((terț-butildimetilsilil)oxi)-5-(((terț-butildimetilsilil)oxi)metil)-3-fluor-5-(iodometil)tetrahidrofuran-2-il)pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

La o soluție de trifenilfosfină (973 mg, 3,71 mmol) și imidazol (252 mg, 3,71 mmol) în THF (5 ml) la temperatura camerei se adaugă iod (253 mg, 1,86 mmol). După dizolvarea completă a iodului, se adaugă lent în picături o soluție de compus 2g (650 mg, 0,93 mmol) în THF (5 ml). Amestecul format se agită la 80°C timp de 3 zile și apoi se concentrează în vid. Reziduul se purifică prin cromatografie pe coloană cu silica gel (de la 0 până la 50% EtOAc în hexani), se obține compusul intermediar 13a (230 mg, 33%) sub formă de ulei.

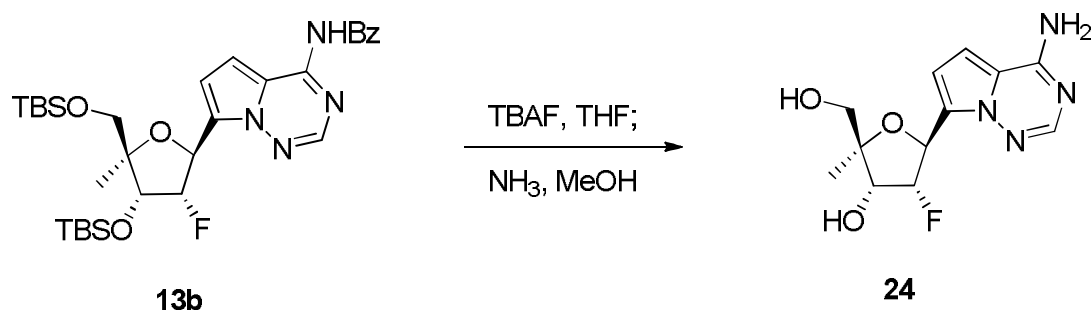
SM *m/z* = 742 [M+H]. Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet.



Compusul intermediar 13b - N-(7-((2S,3S,4R,5R)-4-((terț-butildimetilsilil)oxi)-5-(((terț-butildimetilsilil)oxi)metil)-3-fluor-5-metiltetrahidrofuran-2-il)pirol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-il)benzamidă

5 Compusul intermediar 13a (200 mg, 0,243 mmol) se dizolvă în metanol (10 ml) și într-o atmosferă de azot se adaugă 10% Pd/C (100 mg, 0,094 mmol) și TEA (0,035 ml, 0,243 mmol). Amestecul format se agită apoi într-o atmosferă de H₂ (balon) la temperatura camerei timp de 40 min. Amestecul format se filtrează și se concentrează în vid și rezidul se purifică prin cromatografie pe coloană cu silica gel (de la 0 până la 40% EtOAc în hexani), se obține compusul intermediar 13b (145 mg, 72%) sub formă de substanță solidă albă, puritatea - 75%.

10 SM m/z = 616 [M+H]. Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet



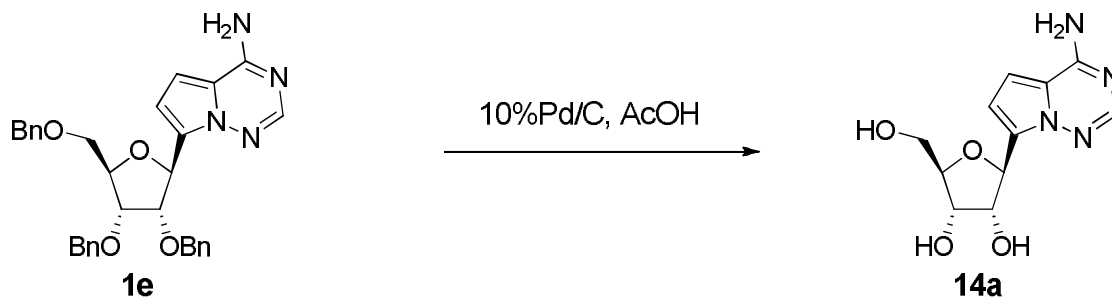
15 Exemplul 24 - (2R,3R,4R,5S)-5-(4-aminopirol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluor-2-(hidroximetil)-2-metiltetrahidrofuran-3-ol

Compusul intermediar 13b (145 mg, 75% puritatea, 0,177 mmol) se dizolvă în THF (10 ml) și se adaugă TBAF (1M în THF, 0,53 ml, 0,531 mmol). Amestecul format se agită la temperatura camerei timp de 2 h și apoi se adaugă amoniu metanolic (7N, 10 ml). Amestecul format se agită timp de 24 h și se concentrează sub presiune redusă. Rezidul brut se purifică CLÎP preparativă (de la 0 până la 35% acetonitril în apă, timp de 20 min), se obține exemplul 24 (30 mg, 60%) sub formă de substanță solidă albă.

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,78 (s, 1H), 6,84 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 6,76 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 5,53 (dd, *J* = 21,5, 4,0 Hz, 1H), 5,25 (ddd, *J* = 55,5; 5,3; 4,1 Hz, 1H), 4,44 (dd, *J* = 17,2; 5,2 Hz, 1H), 3,65...3,43 (m, 2H), 1,27 (s, 3H)

25 ¹⁹F RMN (376 MHz, CD₃OD) δ -197,08 (ddd, *J* = 55,4; 21,5; 17,1 Hz)

SM m/z = 282 [M+H]. Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet.



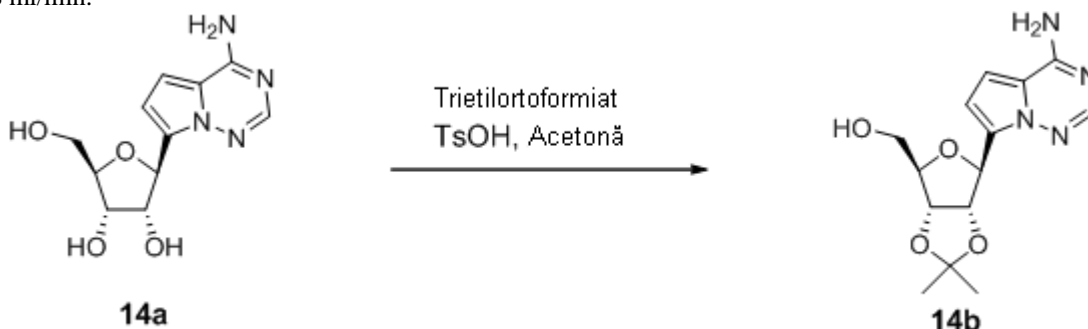
30 Compusul intermediar 14a - (2S,3R,4S,5R)-2-(4-aminopirol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3,4-diol

Compusul intermediar 1e (2,64 g, 4,91 mmol) se dizolvă în acid acetic (50 ml). Balonul se purjează cu argon și se adaugă 10% Pd/C (1,05 g, 0,982 mmol). Balonul se evacuează și de trei ori se umple cu H_2 (gaz). Amestecul de reacție se agită într-o atmosferă de H_2 (gaz). Peste 1h balonul se purjează cu azot și amestecul de reacție se filtrează printr-un strat celite spălat cu CH_3OH . Filtratul se concentrează sub presiune redusă și apoi se coevaporează cu EtOAc, apoi cu hexani. Reziduul se plasează într-un vid înalt, se obține compusul intermediar 14a (1,31 g, 99%) sub formă de substanță solidă albă.

1H RMN (400 MHz, $DSMO-d_6$) δ 7,80 (s, 1H), 7,66 (s, 2H), 6,82 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 6,66 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 5,09 (d, $J = 6,5$ Hz, 1H), 5,06...4,56 (m, 3H), 4,21 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 3,93 (t, $J = 4,9$ Hz, 1H), 3,77 (q, $J = 4,5$ Hz, 1H), 3,48 (ddd, $J = 38,9; 11,8; 4,4$ Hz, 2H).

CL/SM: $t_R = 0,47$ min, SM $m/z = 267,13$ [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic; Gradient: 0 min...2,4 min 2...100% ACN, 2,4 min...2,80 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3,0 min 2% ACN la 1,8 ml/min.

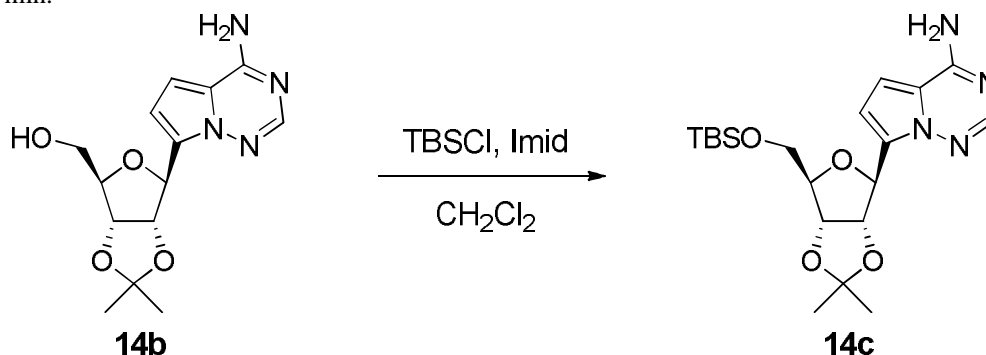


Compusul intermediar 14b - ((3aR,4R,6S,6aS)-6-(4-aminopirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-il)metanol

Compusul intermediar 14a (3,13 g, 11,7 mmol) se dizolvă în acetonă (80 ml) și se adaugă TsOH (6,00 g, 31,5 mmol). Timp de 10 min se adaugă lent trietilortoformiat (6,0 ml, 36,1 mmol). Amestecul format se lasă să se agite la temperatura ambientală peste noapte. Se adaugă soluție apoasă saturată de carbonat de sodiu până la pH amestecului de reacție = 8. Substanțele solide se elimină prin filtrare și filtratul se concentrează sub presiune redusă. Reziduul brut se distribuie între EtOAc și soluție salină saturată. Fazele se separă și produsele organice se usucă deasupra Na_2SO_4 , se filtrează și se concentrează sub presiune redusă. Produsul brut se purifică prin cromatografie pe silica gel (60-100% EtOAc/Hex - 20% MeOH/EtOAc), se obține compusul intermediar 14b (2,55 g, 71%) sub formă de substanță solidă albă.

1H RMN (400 MHz, $DSMO-d_6$) δ 7,83 (s, 1H), 7,71 (s, 2H), 6,83 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 6,73 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 5,21 (d, $J = 4,9$ Hz, 1H), 5,01 (dd, $J = 6,6; 4,9$ Hz, 1H), 4,84 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 4,71 (dd, $J = 6,7; 3,7$ Hz, 1H), 3,99...3,85 (m, 1H), 3,46 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H), 1,48 (s, 3H), 1,29 (s, 3H).

CL/SM: $t_R = 0,87$ min, SM $m/z = 307,21$ [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic; Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN la 1,8 ml/min.



Compusul intermediar 14c - 7-((3aS,4S,6R,6aR)-6-(((terț-butildimetilsilil)oxi)metil)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-il)pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amină

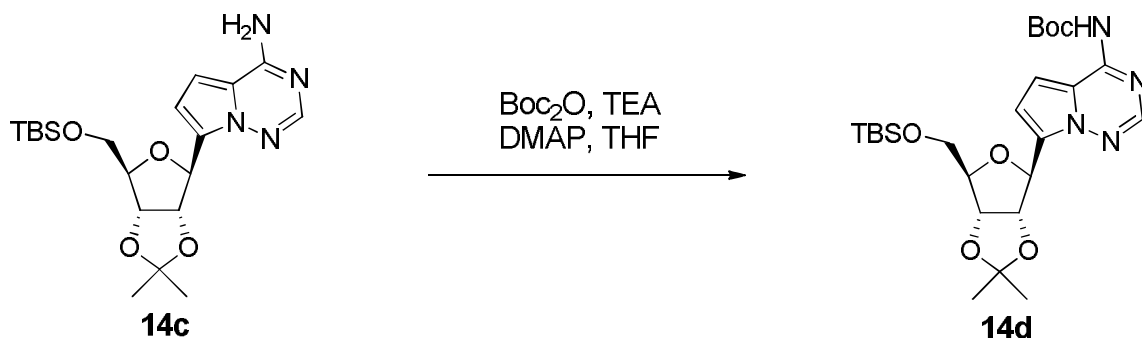
Compusul intermediar 14b (2,55 g, 8,32 mmol) se dizolvă în DCM (50 ml) și amestecul se răcește

până la 0°C. Se adaugă imidazol (1,70 g, 24,9 mmol), apoi TBSCl (1,88 g, 12,5 mmol). Peste 16 h amestecul de reacție se stinge cu metanol. Amestecul format se concentrează sub presiune redusă și reziduul brut se distribuie între apă și EtOAc. Produsele organice se usucă deasupra Na₂SO₄, se filtrează și se concentrează sub presiune redusă. Reziduul brut se purifică prin cromatografie pe silica gel (50...100% EtOAc/Hex), se obține compusul intermediar 14c (2,60 g, 74%) sub formă de substanță solidă albă.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,83 (s, 1H), 7,74 (s, 2H), 6,82 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 6,68 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 5,26 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 5,00 (dd, *J* = 6,5; 4,5 Hz, 1H), 4,71 (dd, *J* = 6,5; 3,7 Hz, 1H), 3,97 (td, *J* = 5,1; 3,6 Hz, 1H), 3,64 (d, *J* = 5,2 Hz, 2H), 1,48 (s, 3H), 1,28 (s, 3H), 0,83 (s, 9H), -0,02 (s, 6H).

CL/SM: *t*_R = 1,91 min, SM *m/z* = 421,60 [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic; Gradient: 0 min...2,4 min 2...100% ACN, 2,4 min...2,80 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3,0 min 2% ACN la 1,8 ml/min.

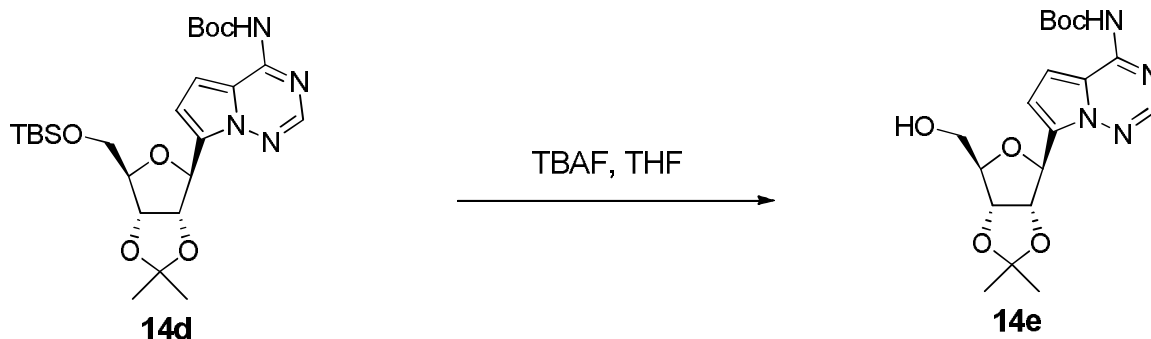


Compusul intermediar 14d - tert-butil (7-((3a*S*,4*S*,6*R*,6*aR*)-6-(((tert-butildimetilsilil)oxi)metil)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[3,4-*d*][1,3]dioxol-4-il)pirol[2,1-*f*][1,2,4]triazin-4-il)carbamat

Compusul intermediar 14c (2,59 g, 6,16 mmol) se dizolvă în THF (60 ml) și soluția formată se răcește până la 0°C. Apoi se adaugă Boc₂O (2,69 g, 12,3 mmol) și DMAP (0,3 g, 2,46 mmol). Se adaugă lent TEA (2,56 ml, 18,3 mmol) și amestecul de reacție se lasă să se încălzească până la temperatura camerei. Peste 3 h amestecul de reacție se răcește până la 0°C și se adaugă MeOH (10 ml), apoi NH₄OH_(ap) concentrat (50 ml). Amestecul format se lasă să se încălzească până la temperatura camerei și se agită peste noapte. Amestecul de reacție se concentrează sub presiune redusă și reziduul brut se distribuie între EtOAc și apă. Straturile se separă și stratul organic se usucă deasupra Na₂SO₄, se filtrează și se concentrează sub presiune redusă. Reziduul brut se purifică prin cromatografie pe silica gel (0-100% EtOAc/Hex), se obține compusul intermediar 14d (2,82 g, 88%) sub formă de substanță solidă albă.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,46 (s, 1H), 8,20 (s, 1H), 7,19 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 5,33 (d, *J* = 4,2 Hz, 1H), 5,02 (dd, *J* = 6,5; 4,3 Hz, 1H), 4,72 (dd, *J* = 6,5; 3,6 Hz, 1H), 4,01 (q, *J* = 5,0 Hz, 1H), 3,64 (d, *J* = 5,1 Hz, 2H), 1,49 (s, 9H), 1,32 (d, *J* = 22,7 Hz, 6H), 0,82 (s, 9H), -0,03 (s, 6H).

CL/SM: *t*_R = 1,89 min, SM *m/z* = 521,27 [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic; Gradient: 0 min...2,4 min 2...100% ACN, 2,4 min...2,80 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3,0 min 2% ACN la 1,8 ml/min.



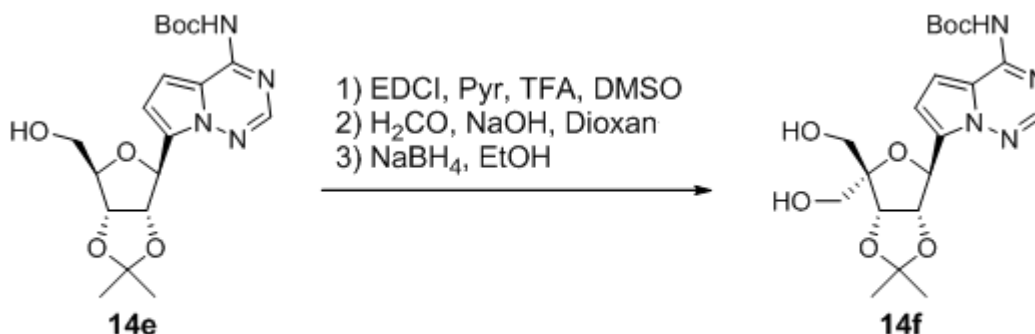
Compusul intermediar 14e - terț-butil (7-((3aS,4S,6R,6aR)-6-(hidroximetil)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-il)pirol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-il)carbamat

5 Compusul intermediar 14d (2,8 g, 5,4 mmol) se dizolvă în THF (50 ml) și se adaugă TBAF (1,0M în THF, 5,92 ml, 5,92 mmol). Peste 30 min se adaugă o cantitate suplimentară de TBAF (1,0M în THF, 5,92 ml, 5,92 mmol). Peste încă 30 min amestecul de reacție se stinge cu apă și amestecul format se extrage cu EtOAc (2 x). Straturile organice combinate se spală cu soluție salină saturată, se usucă deasupra Na₂SO₄, se filtrează și se concentrează sub presiune redusă. Reziduul brut se purifică prin
10 cromatografie pe silica gel (10...100% EtOAc/Hex), se obține compusul intermediar 14e (2,19 g, 86%) sub formă de substanță solidă de culoare albă.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,46 (s, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,20 (s, 1H), 6,95 (s, 1H), 5,29 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 5,03 (dd, *J* = 6,6; 4,7 Hz, 1H), 4,85 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H), 4,72 (dd, *J* = 6,6; 3,6 Hz, 1H), 4,05...3,90 (m, 1H), 3,46 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H), 1,50 (s, 12H), 1,29 (s, 3H).

15 CL/SM: *t*_R = 1,52 min, SM *m/z* = 407,05 [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic; Gradient: 0 min...2,4 min 2...100% ACN, 2,4 min...2,80 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3,0 min 2% ACN la 1,8 ml/min.

20



Compusul intermediar 14f - terț-butil (7-((3aS,4S,6aS)-6,6-bis(hidroximetil)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-il)pirol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-il)carbamat

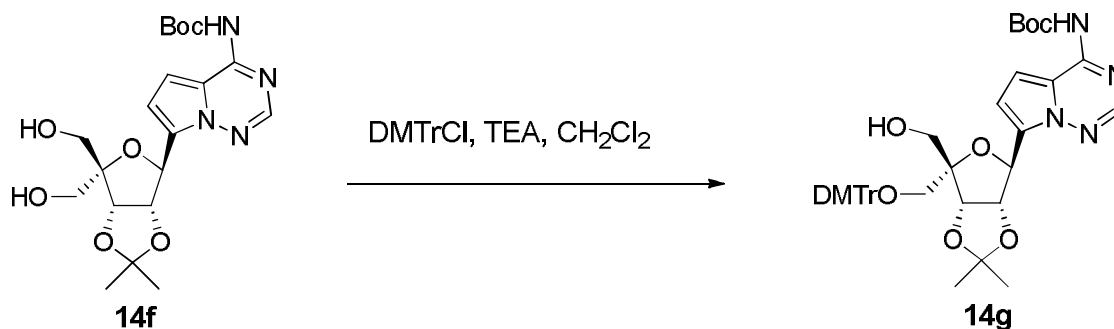
25 Compusul intermediar 14e (1,78 g, 4,38 mmol) se dizolvă în DMSO (20 ml) și toluen (15ml). Se adaugă piridină (0,35 ml, 4,38 mmol) și EDCI (1,26 g, 6,56 mmol), apoi TFA (0,178 ml, 2,39 mmol). Peste 90 min se adaugă o cantitate suplimentară de piridină (0,35 ml, 4,38 mmol) și EDCI (1,26 g, 6,56 mmol) și amestecul de reacție se agită timp de încă 30 min. Amestecul de reacție se stinge cu apă și amestecul format se extrage cu CH₂Cl₂. Stratul apos se extrage repetat cu CH₂Cl₂. Straturile organice se combină și se spală cu soluție salină saturată, se usucă deasupra Na₂SO₄, se filtrează și se
30 concentrează sub presiune redusă. Produsul brut se plasează în vid înalt pentru 15 min, apoi se utilizează în etapa următoare.

35 Reziduul brut se dizolvă în dioxan (15 ml) și se adaugă succesiv formaldehidă (37% în apă, 5,0 ml, 37,2 mmol) și 2N NaOH (5,34 ml, 10,7 mmol). Peste 10 min amestecul de reacție se stinge cu AcOH și amestecul format se distribuie între NaHCO_{3(ap)} saturat și CH₂Cl₂. Stratul apos se extrage repetat cu CH₂Cl₂. Straturile organice se combină și se spală cu soluție salină saturată, se usucă deasupra Na₂SO₄, se filtrează și se concentrează sub presiune redusă. Produsul brut se plasează în vid înalt pentru 15 min, apoi se utilizează direct în etapa următoare.

Reziduu brut se dizolvă în EtOH (50 ml) și în porții mici se adaugă NaBH₄ (0,324 g, 8,76 mmol). Peste 20 min amestecul de reacție se stinge cu AcOH și se concentrează sub presiune redusă. Reziduu brut se distribuie între cu EtOAc și NaHCO_{3(ap)} saturat. Stratul organic se separă, se usucă deasupra Na₂SO₄, se filtrează și se concentrează sub presiune redusă. Reziduu brut se purifică prin cromatografie pe silica gel (50...100% EtOAc/Hex), se obține compusul intermediar 14f (1,91 g, 68%) sub formă de substanță solidă de culoare albă.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,45 (s, 1H), 8,20 (s, 1H), 7,19 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H), 6,95 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 5,35 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 5,06 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H), 4,79...4,74 (m, 2H), 4,45 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H), 3,73...3,46 (m, 3H), 3,40...3,30 (m, 1H), 1,50 (s, 12H), 1,27 (s, 3H).

CL/SM: *t*_R = 1,45 min, SM *m/z* = 437,09 [M+H]⁺; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic; Gradient: 0 min...2,4 min 2...100% ACN, 2,4 min...2,80 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3,0 min 2% ACN la 1,8 ml/min.



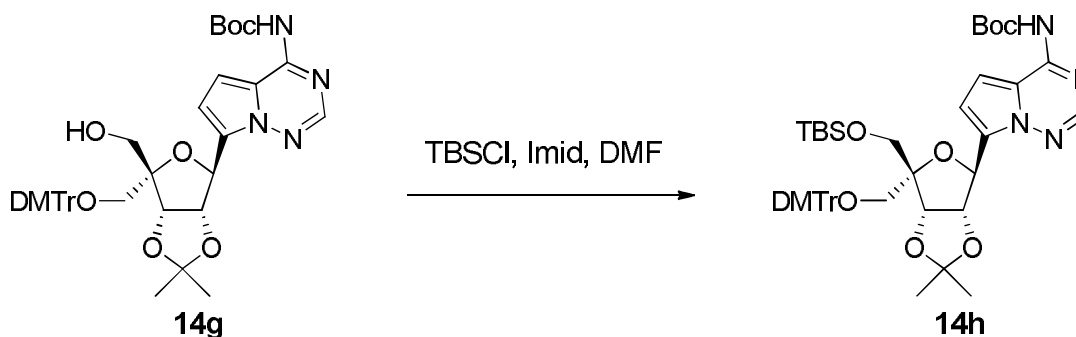
Compusul intermediar 14g - terț-butil (7-((3a*S*,4*S*,6*S*,6a*S*)-6-((bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi)metil)-6-(hidroximetil)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[3,4-*d*][1,3]dioxol-4-il)pirol[2,1-*f*][1,2,4]triazin-4-il)carbamate

Compusul intermediar 14f (1,15 g, 2,63 mmol) se dizolvă în CH₂Cl₂ (50 ml) și se adaugă TEA (0,73 ml, 5,27 mmol). Soluția formată se răcește până la 0°C și se adaugă DMTrCl (1,35 g, 3,95 mmol). Peste 10 min amestecul de reacție se stinge cu CH₃OH și apoi se diluează cu CH₂Cl₂. Amestecul format se spală cu NaHCO_{3(ap)} saturat și soluție salină saturată. Stratul organic se usucă deasupra Na₂SO₄, se filtrează și se concentrează sub presiune redusă. Reziduu brut se purifică prin cromatografie pe silica gel (0...100% EtOAc/Hex), se obține 14g (1,95 g, 79%) sub formă de substanță solidă aproape albă.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,46 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,56...7,07 (m, 10H), 7,07...6,70 (m, 5H), 5,24 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 5,04 (t, *J* = 5,9 Hz, 1H), 4,93...4,71 (m, 2H), 3,80...3,59 (m, 7H), 3,52 (dd, *J* = 10,9; 4,8 Hz, 1H), 3,25 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 3,09 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 1,50 (s, 9H), 1,25 (s, 3H), 1,21 (s, 3H).

CL/SM: *t*_R = 2,54 min, SM *m/z* = 739,28 [M+H]⁺; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP

Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic; Gradient: 0 min...2,4 min 2...100% ACN, 2,4 min...2,80 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3,0 min 2% ACN la 1,8 ml/min.

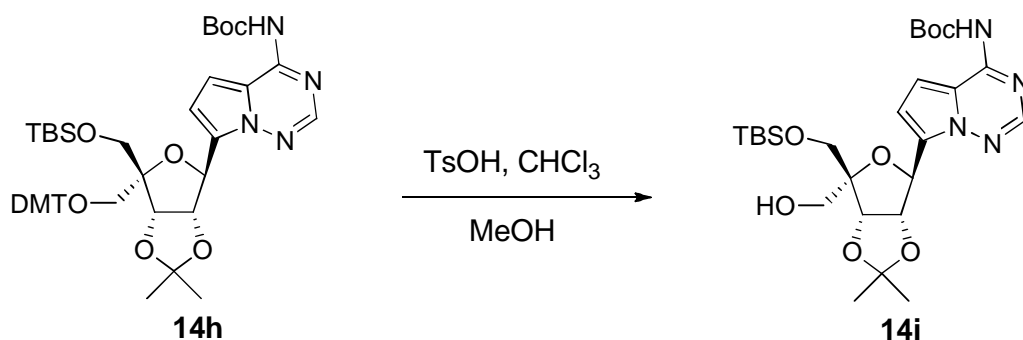


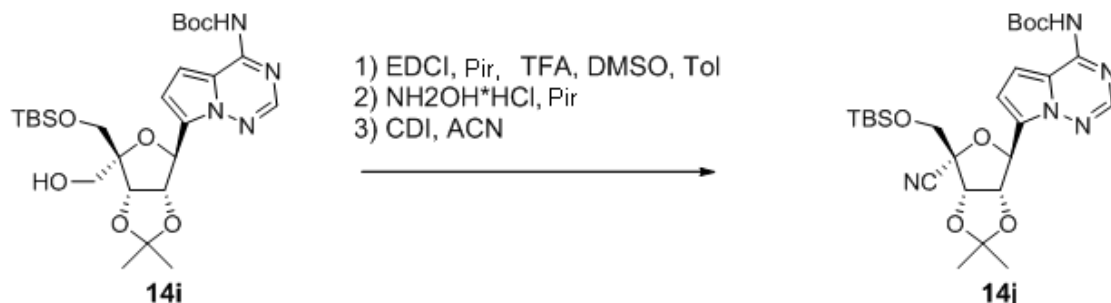
Compusul intermediar 14h - terț-butil (7-((3aS,4S,6R,6aS)-6-((bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi)metil)-6-(((terț-butildimetilsilil)oxi)metil)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-il)pirol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-il)carbamat

5 Compusul intermediar 14g (1,53 g, 2,08 mmol) se dizolvă în DMF (10 ml) și se adaugă imidazol (0,42 g, 6,23 mmol), apoi TBSCl (0,47 g, 3,11 mmol). Peste 1 h amestecul de reacție se stinge cu metanol și distribuie între EtOAc și 5% LiCl_(ap). Fazele se separă și stratul organic se spală cu soluție salină saturată, se usucă deasupra Na₂SO₄, se filtrează și se concentrează sub presiune redusă. Reziduu brut se purifică prin cromatografie pe silica gel (0...50% EtOAc/Hex), se obține 14h (1,77 g, 78%) sub formă de substanță solidă aproape albă.

10 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,47 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,56...6,66 (m, 15H), 5,31 (d, *J* = 4,9 Hz, 1H), 5,14 (dd, *J* = 6,5; 4,9 Hz, 1H), 4,73 (d, *J* = 6,5 Hz, 1H), 3,87 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 3,72 (s, 6H), 3,53 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 3,31 (m, 1H), 3,08 (d, *J* = 9,8 Hz, 1H), 1,50 (s, 9H), 1,25 (s, 3H), 1,22 (s, 3H), 0,75 (s, 9H), -0,04 (s, 3H), -0,08 (s, 3H).

15 CL/SM: *t*_R = 2,34 min, SM *m/z* = 853,50 [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic ; Gradient: 0 min...1,0 min 2...100% ACN, 1,0 min...2,80 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3,0 min 2% ACN la 1,8 ml/min.





Compusul intermediar 14j - terț-butil (7-((3aS,4S,6R,6aS)-6-(((terț-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-cian-2,2-dimetiltetrahidrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-il) pirol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-il)carbamat

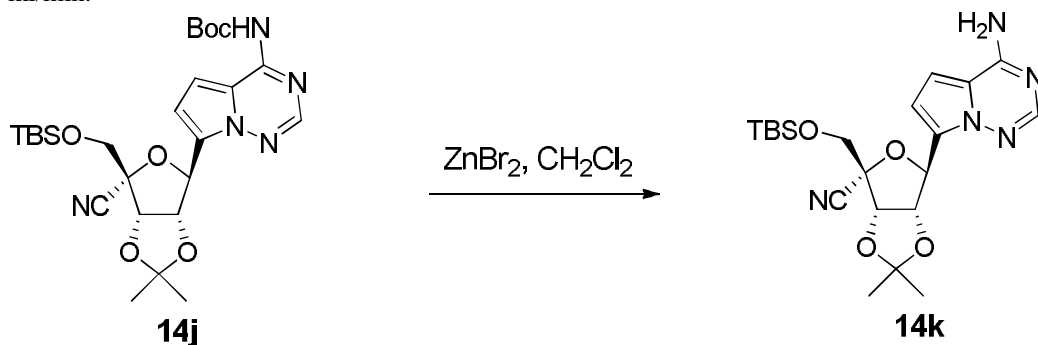
Compusul intermediar 14i (0,838 g, 1,52 mmol) se dizolvă în DMSO (5 ml) și toluen (3 ml). Se adaugă piridină (0,14 ml, 1,67 mmol) și EDCI (0,438 g, 2,28 mmol), apoi TFA (0,057 ml, 0,761 mmol). Peste 30 min se adaugă o cantitate suplimentară de piridină (0,14 ml, 1,67 mmol) și EDCI (0,438 g, 2,28 mmol). Peste 1 h se adaugă o cantitate suplimentară de piridină (0,14 ml, 1,67 mmol) și EDCI (0,438 g, 2,28 mmol). Peste 2 h amestecul de reacție se stinge cu ? NaHCO_{3(ap)} saturat și se distribuie între EtOAc și ½ NaHCO_{3(ap)} saturat. Straturile se separă și stratul organic se usucă deasupra Na₂SO₄, se filtrează și se concentrează sub presiune redusă. Reziduu se dizolvă în CH₂Cl₂, se concentrează în vid înalt timp de 1 h, se obține un reziduu, care se utilizează direct în etapa următoare.

Reziduu se dizolvă în piridină (8 ml) și într-o porție se adaugă hidrociorură de hidroxilamină (0,159 g, 2,28 mmol). Peste 15 min, amestecul de reacție se concentrează sub presiune redusă și se distribuie între EtOAc și apă. Stratul organic se usucă deasupra Na₂SO₄, se filtrează și se concentrează sub presiune redusă. Reziduu brut se plasează în vid înalt pentru 30 min și se utilizează în etapa a treia.

Reziduu brut se dizolvă în ACN (8 ml). Într-o porție se adaugă CDI (0,37 g, 2,28 mmol). Peste 45 min se adaugă o cantitate suplimentară de CDI (0,37 g, 2,28 mmol). Peste 1 h amestecul de reacție se stinge cu ? NaHCO_{3(ap)} saturat. Produsul brut se distribuie între EtOAc și ½ NaHCO_{3(ap)} saturat. Straturile se separă și stratul organic se usucă deasupra Na₂SO₄, se filtrează și se concentrează sub presiune redusă. Reziduu brut se purifică prin cromatografie pe silica gel (0...50% EtOAc/Hex), se obține compusul intermediar 14j (0,72 g, 87%) sub formă de substanță solidă de culoare albă.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,53 (s, 1H), 8,25 (s, 1H), 7,21 (s, 1H), 7,00 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 5,62 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 5,28 (dd, *J* = 6,6; 3,7 Hz, 1H), 4,93 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H), 3,83 (s, 2H), 1,62 (s, 3H), 1,50 (s, 9H), 1,33 (s, 3H), 0,83 (s, 9H), 0,00 (s, 6H).

CL/SM: *t*_R = 2,50 min, SM *m/z* = 546,15 [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic; Gradient: 0 min...2,4 min 2...100% ACN, 2,4 min...2,80 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3,0 min 2% ACN la 1,8 ml/min.



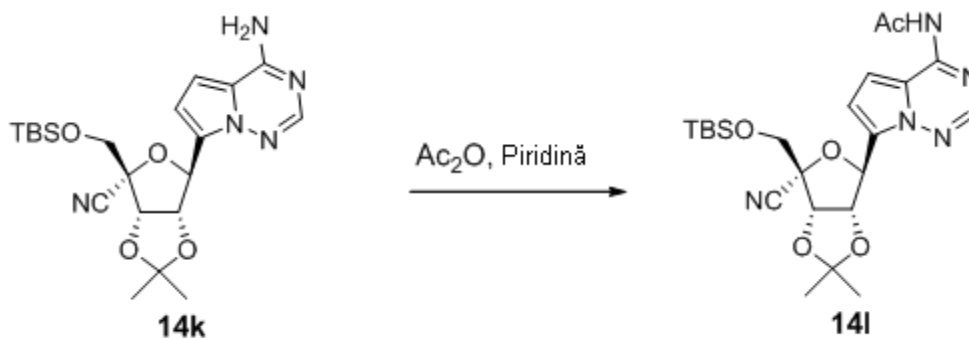
Compusul intermediar 14k - (3aS,4R,6S,6aS)-6-(4-aminopirol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-(((terț-butildimetilsilil)oxi)metil)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-carbonitril

Compusul intermediar 14j (0,688 g, 1,26 mmol) se dizolvă în CH₂Cl₂ (15 ml). Într-o porție se adaugă bromură de zinc (0,567 g, 2,52 mmol) și amestecul de reacție se agită la temperatura ambientală. Peste 3 h amestecul de reacție se introduce într-un cartuș cu silica gel și se purifică prin cromatografie pe silica gel (40...100% EtOAc/Hex), se obține compusul intermediar 14k (0,56 g, 99%) sub formă de substanță solidă de culoare albă.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,86 (s, 1H), 7,80 (s, 2H), 6,85 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 6,79 (d, *J* =

4,5 Hz, 1H), 5,55 (d, $J = 3,7$ Hz, 1H), 5,25 (dd, $J = 6,6; 3,8$ Hz, 1H), 4,92 (d, $J = 6,6$ Hz, 1H), 3,82 (s, 2H), 1,61 (s, 3H), 1,33 (s, 3H), 0,83 (s, 9H), -0,13 (s, 6H).

CL/SM: $t_R = 2,27$ min, SM $m/z = 446,68$ [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic; Gradient: 0 min...2,4 min 2...100% ACN, 2,4 min...2,80 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3,0 min 2% ACN la 1,8 ml/min.

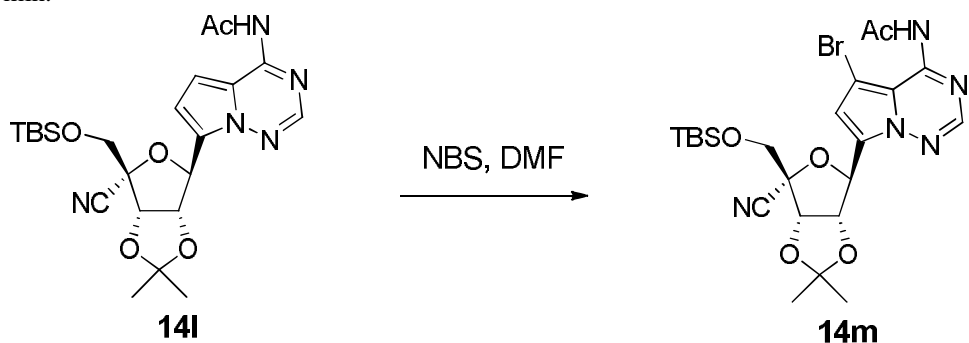


10 Compusul intermediar 14l - N-(7-((3aS,4S,6R,6aS)-6-(((terț-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-cian-2,2-dimetiltetrahidrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-il)pirol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-il)acetamidă

15 Compusul intermediar 14k (0,20 g, 0,449 mmol) se dizolvă în piridină (2 ml), apoi se adaugă anhidridă acetică (0,21 ml, 2,24 mmol) și amestecul de reacție se agită la temperatura ambientală. Peste 30 min amestecul de reacție se stinge cu metanol și se concentrează sub presiune redusă. Reziduu brut se purifică direct prin cromatografie pe silica gel (0...100% EtOAc/Hex), se obține compusul intermediar 14l (0,185 g, 85%) sub formă de substanță solidă de culoare albă.

^1H RMN (400 MHz, $\text{DSMO}-d_6$) δ 10,87 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 7,24 (d, $J = 4,7$ Hz, 1H), 7,05 (d, $J = 4,7$ Hz, 1H), 5,65 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 5,29 (dd, $J = 6,6; 3,6$ Hz, 1H), 4,93 (d, $J = 6,6$ Hz, 1H), 3,84 (s, 2H), 2,36 (s, 3H), 1,62 (s, 3H), 1,33 (s, 3H), 0,83 (s, 9H), 0,00 (s, 3H), -0,01 (s, 3H).

20 CL/SM: $t_R = 1,14$ min, SM $m/z = 488,38$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic; Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN, 1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN la 1,8 ml/min.



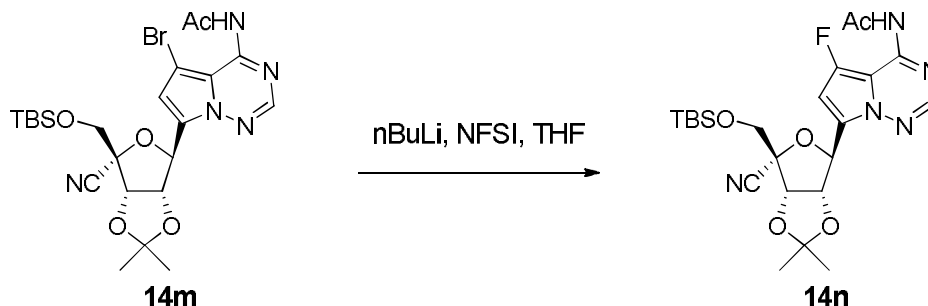
25 Compusul intermediar 14m - N-(5-brom-7-((3aS,4S,6R,6aS)-6-(((terț-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-cian-2,2-dimetiltetrahidrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-il)pirol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-il)acetamidă

30 Compusul intermediar 14l (80 mg, 0,164 mmol) se dizolvă în DMF (2 ml) și într-o porție se adaugă NBS (29 mg, 0,164 mmol). Peste 45 min amestecul de reacție se diluează cu metanol. The solvenții se elimină sub presiune redusă. Reziduu brut se purifică prin cromatografie pe silica gel (0...50% EtOAc/Hex), se obține compusul intermediar 14m (50 mg, 54%) sub formă de substanță solidă aproape albă.

^1H RMN (400 MHz, $\text{DSMO}-d_6$) δ 10,13 (s, 1H), 8,42 (s, 1H), 7,29 (s, 1H), 5,65 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H), 5,29 (dd, $J = 6,6; 3,2$ Hz, 1H), 4,91 (d, $J = 6,5$ Hz, 1H), 3,84 (d, $J = 1,6$ Hz, 2H), 2,27 (s, 3H), 1,62 (s, 3H), 1,33 (s, 3H), 0,83 (s, 9H), 0,02 (s, 3H), 0,00 (s, 3H).

35 CL/SM: $t_R = 1,79$ min, SM $m/z = 566,40$ [M+1]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic; Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN,

1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN la 1,8 ml/min.



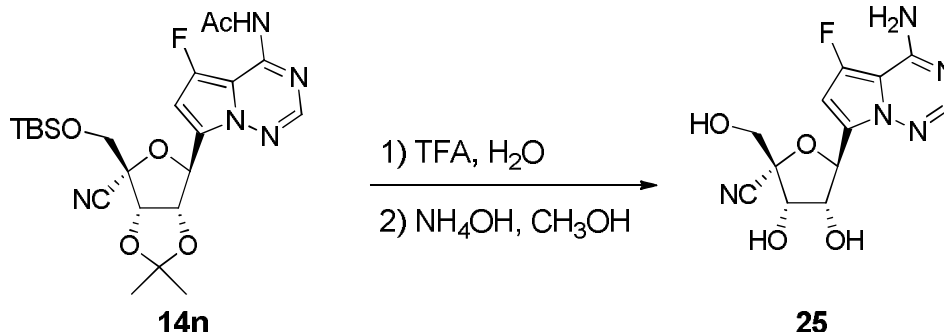
Compusul intermediar 14n - N-(7-((3aS,4S,6R,6aS)-6-(((terț-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-cian-2,2-dimetiltetrahidrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-il)-5-fluorpirol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-il)acetamidă

Compusul intermediar 14m (50 mg, 0,088 mmol) se dizolvă în THF (2 ml) și soluția se răcește până la -78°C . Se adaugă *n*BuLi (2,5M în hexani, 0,071 ml, 0,18 mmol). Peste 5 min se adaugă *N*-fluorbenzensulfonimidă (NSFI, 33,4 mg, 0,106 mmol) și amestecul de reacție se agită timp de 5 min. Amestecul de reacție se stinge apoi cu AcOH. Solvenții se elimină sub presiune redusă. Reziduu brut se purifică prin CLÎP cu fază inversă, se obține compusul intermediar 14n (10 mg, 22%) sub formă de substanță solidă de culoare albă.

^1H RMN (400 MHz, Metanol- d_4) δ 8,13 (s, 1H), 6,80 (s, 1H), 5,65 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H), 5,23 (dd, $J = 6,7; 3,6$ Hz, 1H), 4,97 (d, $J = 6,7$ Hz, 1H), 3,92 (d, $J = 1,7$ Hz, 2H), 2,37 (s, 3H), 1,70 (s, 3H), 1,38 (s, 3H), 0,90 (s, 9H), 0,08 (s, 6H).

^{19}F RMN (376 MHz, Metanol- d_4) δ -156,43 (s).

CL/SM: $t_{\text{R}} = 1,65$ min, SM $m/z = 506,18$ [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic ; Gradient: 0 min...2,4 min 2...100% ACN, 2,4 min...2,80 min 100% ACN, 2,8 min...2,85 min 100%...2% ACN, 2,85 min...3,0 min 2% ACN la 1,8 ml/min.



Exemplul 25 - (2R,3S,4R,5S)-5-(4-amino-5-fluorpirol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-carbonitril

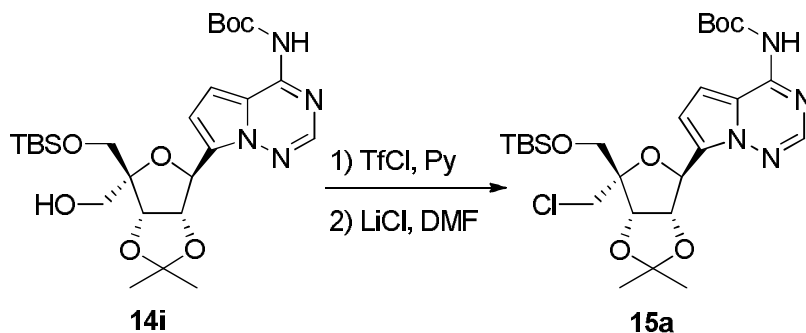
Compusul intermediar 14n (11 mg, 0,022 mmol) se plasează într-o soluție de 50% TFA în apă la temperatura ambientală. Peste 2 h amestecul de reacție se stinge cu Na_2CO_3 solid până la pH = 8. Solventul se elimină sub presiune redusă și reziduu brut se purifică prin CLÎP cu fază inversă. Frațiile cu conținut de compus din exemplul 25 se combină și se lasă și fracțiile cu conținut de N6-Acil se combină și se concentrează sub presiune redusă. Reziduu N6-Acil al compusului intermediar se tratează cu $\text{NH}_4\text{OH}_{(\text{ap})}$ concentrat (1 ml) și amestecul se lasă să se agite la temperatura ambientală. Peste 30 min amestecul format se concentrează sub presiune redusă și reziduu brut se purifică prin CLÎP. Frațiile cu conținut de compus din exemplul 25 se combină cu fracțiile lăuate anterior cu conținut de compus din exemplul 25, se obține compusul din exemplul 25 (4 mg, 58%) sub formă de substanță solidă de culoare albă.

^1H RMN (400 MHz, Metanol- d_6) δ 7,71 (s, 1H), 6,56 (s, 1H), 5,44 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,48 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,36 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H), 3,83 ((ABq), $\Delta\delta = 0,05$ ppm, $J = 12$ Hz, 2H).

^{19}F RMN (376 MHz, Metanol- d_4) δ -161,81 (s).

CL/SM: $t_{\text{R}} = 0,47$ min, SM $m/z = 310,13$ [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid formic, apă cu 0,1% acid formic ; Gradient: 0 min...1,4 min 2...100% ACN,

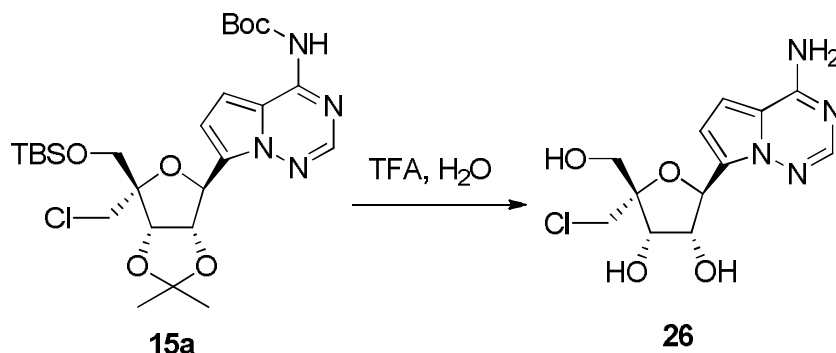
1,4 min...1,80 min 100% ACN, 1,8 min...1,85 min 100%...2% ACN, 1,85 min...2 min 2% ACN la 1,8 ml/min.



Compusul intermediar 15a - terț-butil (7-((3aS,4S,6R,6aS)-6-(((terț-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-(clormetil)-2,2-dimetiltetrahidrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-il)pirol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-il)carbamat

5 Compusul intermediar 14i (100 mg, 0,18 mmol) se dizolvă în piridină anhidră (5 ml). Într-o porție se adaugă clorură de trifluormetansulfonil (23 μ l, 0,22 mmol) și amestecul de reacție se agită timp de 45 min la temperatura camerei. Se adaugă apoi o cantitate suplimentară de clorură de trifluormetansulfonil (100 μ l). Peste 30 min se adaugă o cantitate suplimentară de clorură de trifluormetansulfonil (100 μ l).
10 Peste încă 30 min se mai adaugă o cantitate suplimentară de clorură de trifluormetansulfonil (100 μ l) și amestecul de reacție se agită timp de 30 min, moment în care amestecul de reacție se concentrează sub presiune redusă. Reziduul brut se dizolvă în DMF anhidru (5 ml) și într-o porție se adaugă clorură de litiu (153 mg, 3,6 mmol). Amestecul format se agită la temperatura camerei timp de 16 h. Amestecul de reacție se diluează cu acetat de etil (50 ml) și se spală cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (3 x 20 ml).
15 Stratul organic se usucă deasupra sulfatului de sodiu anhidru și se concentrează sub presiune redusă. Reziduul brut se purifică prin cromatografie cu silica gel (0...20% acetat de etil în hexani), se obține compusul intermediar 15a.

SM m/z = 569,0 [M+H]. Sistemul SM: Thermo LCQ Advantage



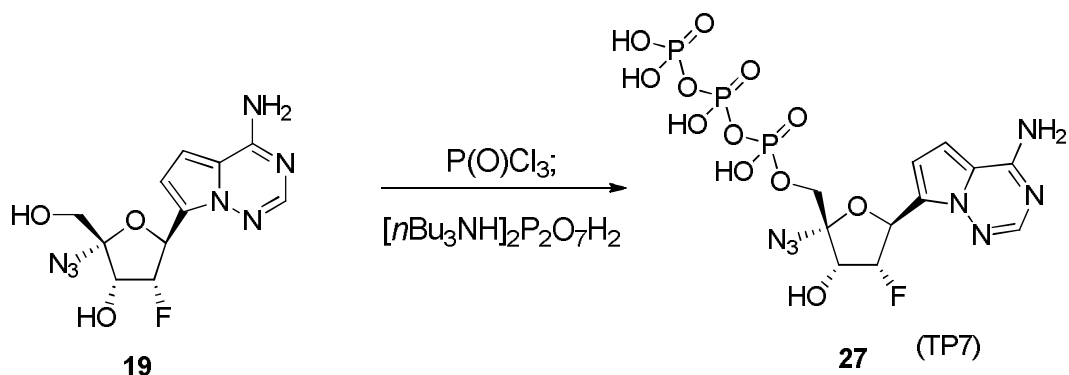
20 Exemplul 26 - (2R,3S,4R,5S)-5-(4-aminopirol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-(clormetil)-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3,4-diol

Compusul intermediar 15a se dizolvă într-o soluție de TFA și apă (1:1,5 ml) și amestecul format se agită timp de 16 h. Amestecul de reacție se concentrează apoi sub presiune redusă. Reziduul brut se dizolvă în soluție apoasă de bicarbonat de sodiu și acetonitril și se purifică prin CLÎP preparativă, se obține compusul din exemplul 26 (19 mg, 34%) sub formă de pudră albă.

^1H RMN (400 MHz, D_2O) δ 7,61 (s, 1H), 6,72...6,64 (m, 2H), 5,19 (d, J = 9,1 Hz, 1H), 4,73...4,66 (m, 1H), 4,28 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 3,78 (s, 2H), 3,72...3,57 (m, 2H).

SM m/z = 315,3 [M+H]. Sistemul SM: Thermo LCQ Advantage

30



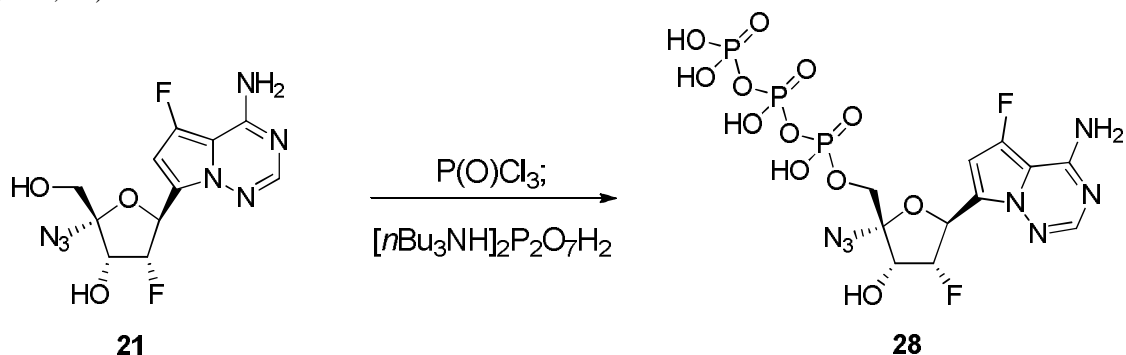
Exemplul 27 (de asemenea TP7) - ((2R,3R,4R,5S)-5-(4-aminopirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-azido-4-fluor-3-hidroxitetrahidrofuran-2-il)metil tetrahidrot trifosfat

5 Compusul din exemplul 27 se prepară sub formă de sare de tetra-sodiu printr-o metodă similară celei descrise pentru exemplul TP4, reieșind din compusul din exemplul 19.

^1H RMN (400 MHz, D_2O) δ 7,76 (s, 1H), 6,83 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 6,80 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 5,94 (d, $J = 25,2$ Hz, 1H), 5,24 (dd, $J = 55,2$; 5,2 Hz, 1H), 4,78 (dd, $J = 26,8$; 5,2 Hz, 1H), 4,08... 4,18 (m, 2H).

^{19}F RMN (376 MHz, D_2O) δ -193,74 ... -194,02 (m).

10 ^{31}P RMN (162 MHz, D_2O) δ -4,60 (d, $J = 53,2$ Hz, 1P), -10,25 (d, $J = 48,4$ Hz, 1P), -20,28 (t, $J = 48,4$ Hz, 1P).



Exemplul 28 - ((2R,3R,4R,5S)-5-(4-amino-5-fluoropirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-azido-4-fluor-3-hidroxitetrahidrofuran-2-il)metil tetrahidrot trifosfat

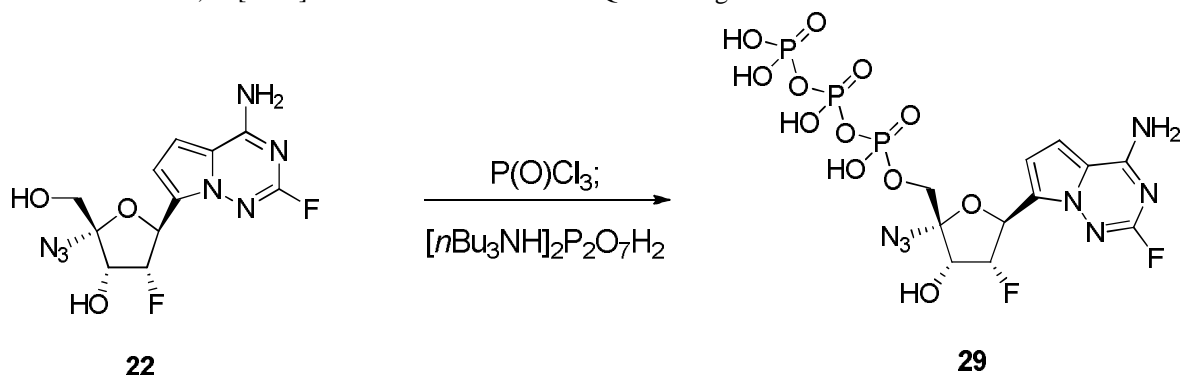
15 Compusul din exemplul 28 se prepară sub formă de sare de tetra-sodiu printr-o metodă similară celei descrise pentru exemplul TP4, reieșind din compusul din exemplul 21.

^1H RMN (400 MHz, D_2O) δ 7,64 (s, 1H), 6,60 (s, 1H), 5,90 (d, $J = 24,4$ Hz, 1H), 5,20 (dd, $J = 54,8$; 4,8 Hz, 1H), 4,72 (dd, $J = 27,2$; 4,8 Hz, 1H), 4,05...4,18 (m, 2H).

^{19}F RMN (376 MHz, D_2O) δ -161,00 (s), -196,39...-196,69 (m).

20 ^{31}P RMN (162 MHz, D_2O) δ -8,24 (d, $J = 50,4$ Hz), -14,20 (d, $J = 46,0$ Hz), -24,08 (t, $J = 48,4$ Hz).

SM $m/z = 567,87$ [M+1]. Sistemul SM: Thermo LCQ Advantage



25 Exemplul 29 - ((2R,3R,4R,5S)-5-(4-amino-2-fluoropirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-azido-4-fluor-3-hidroxitetrahidrofuran-2-il)metil tetrahidrot trifosfat

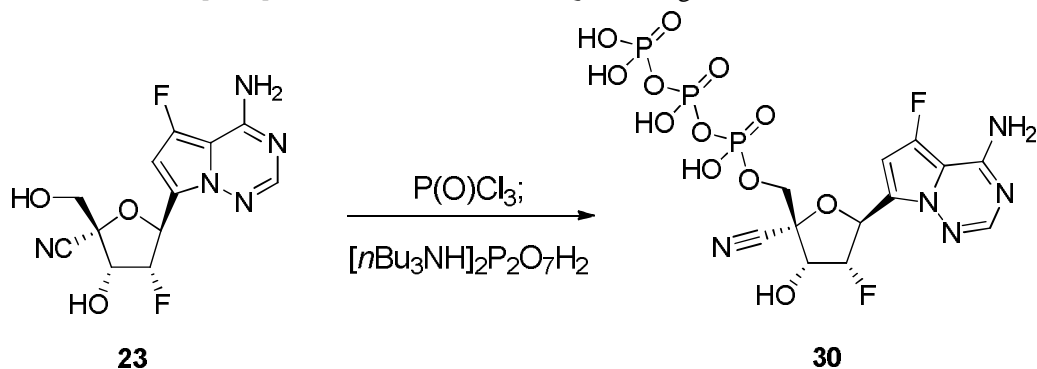
Compusul din exemplul 29 se prepară sub formă de sare de tetra-sodiu printr-o metodă similară celei descrise pentru exemplul TP4, reieșind din compusul din exemplul 22.

^1H RMN (400 MHz, D_2O) δ 6,81 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 6,75 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 5,81 (d, $J = 24,4$ Hz, 1H), 5,16 (dd, $J = 54,4; 4,8$ Hz, 1H), 4,70 (dd, $J = 26,8; 4,4$ Hz, 1H), 4,02...4,12 (m, 2H).

5 ^{19}F RMN (376 MHz, D_2O) δ -75,95 (s), -196,51...-196,80 (m).

^{31}P RMN (162 MHz, D_2O) δ -8,29 (d, $J = 53,2$ Hz), -14,22 (d, $J = 48,4$ Hz), -24,09 (t, $J = 48,4$ Hz).

SM $m/z = 567,59$ [M+1]. Sistemul SM: Thermo LCQ Advantage



10 Exemplul 30 - ((2R,3R,4R,5S)-5-(4-amino-5-fluoropirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-cian-4-fluor-3-hidroxitetrahidrofuran-2-il)metil tetrahidrotrifosfat

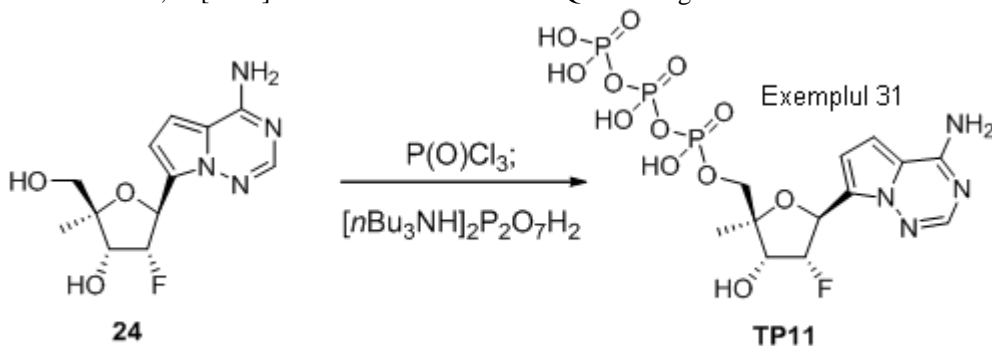
Compusul din exemplul 30 se prepară sub formă de sare de tetra-sodiu printr-o metodă similară celei descrise pentru exemplul TP4, reieșind din compusul din exemplul 23.

^1H RMN (400 MHz, D_2O) δ 7,64 (s, 1H), 6,57 (s, 1H), 5,87 (d, $J = 24,8$ Hz, 1H), 5,26 (dd, $J = 53,6; 4,0$ Hz, 1H), 4,82 (dd, $J = 25,2; 4,4$ Hz, 1H), 4,26...4,35 (m, 2H).

15 ^{19}F RMN (376 MHz, D_2O) δ -161,05 (s), -194,92...-195,19 (m).

^{31}P RMN (162 MHz, D_2O) δ -8,22 (d, $J = 50,8$ Hz), -14,48 (d, $J = 48,4$ Hz), -24,01 (t, $J = 48,4$ Hz).

SM $m/z = 551,91$ [M+1]. Sistemul SM: Thermo LCQ Advantage



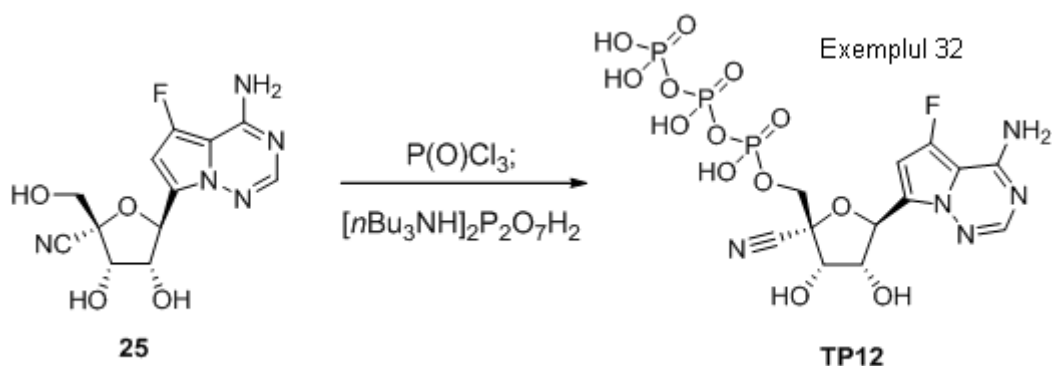
20 Exemplul 31 (de asemenea TP11) - ((2R,3R,4R,5S)-5-(4-aminopirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluor-3-hidroxi-2-metiltetrahidrofuran-2-il)metil tetrahidrotrifosfat

Compusul din exemplul 31 se prepară sub formă de sare de tetra-sodiu printr-o metodă similară celei descrise pentru exemplul TP4, reieșind din compusul din exemplul 24.

^1H RMN (400 MHz, D_2O) δ 7,66 (s, 1H), 6,78 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 6,72 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 5,58 (dd, $J = 23,6; 2,4$ Hz, 1H), 5,16 (ddd, $J = 55,2; 5,2; 2,8$ Hz, 1H), 4,51 (dd, $J = 23,2; 5,2$ Hz, 1H), 3,88 (dd, $J = 11,6; 6,0$ Hz, 1H), 3,78 (dd, $J = 10,8; 4,0$ Hz, 1H), 1,2 (s, 3H).

25 ^{19}F RMN (376 MHz, D_2O) δ -195,74...-196,01 (m).

^{31}P RMN (162 MHz, D_2O) δ -8,24 (d, $J = 50,4$ Hz), -13,54 (d, $J = 45,6$ Hz), -24,11 (t, $J = 48,0$ Hz).



Exemplul 32 (de asemenea TP12) - ((2R,3S,4R,5S)-5-(4-amino-5-fluorpirol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-cian-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metil tetrahidrot trifosfat

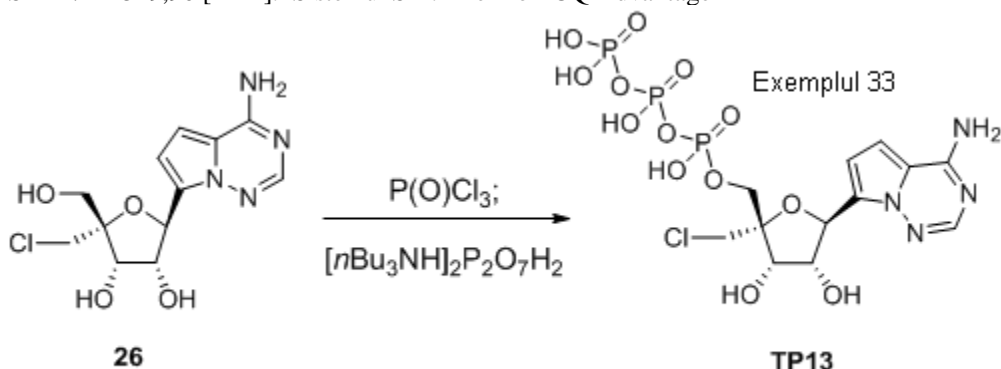
5 Compusul din exemplul 32 se prepară sub formă de sare de tetra-sodiu printr-o metodă similară celei descrise pentru exemplul TP4, reieșind din compusul din exemplul 25.

¹H RMN (400 MHz, D₂O) δ 7,59 (s, 1H), 6,57 (s, 1H), 5,44 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 4,56 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 4,48 (dd, *J* = 5,6 Hz, 1H), 4,16 (dd, *J* = 11,6; 6,0 Hz, 1H), 4,08 (dd, *J* = 11,2; 5,2 Hz, 1H).

¹⁹F RMN (376 MHz, D₂O) δ -161,25 (s).

³¹P RMN (162 MHz, D₂O) δ -8,29 (d, *J* = 48,4 Hz), -14,49 (d, *J* = 53,2 Hz), -24,15 (t, *J* = 48,4 Hz).

10 SM *m/z* = 549,90 [M+1]. Sistemul SM: Thermo LCQ Advantage



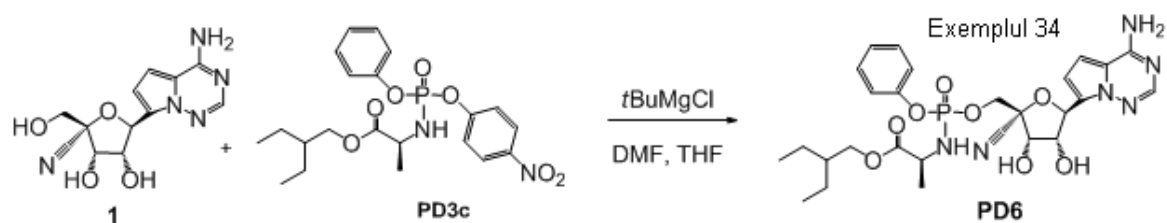
Exemplul 33 (de asemenea TP13) - ((2R,3S,4R,5S)-5-(4-aminopirol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-clormetil)-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metil tetrahidrot trifosfat

15 Compusul din exemplul 33 se prepară sub formă de sare de tetra-sodiu printr-o metodă similară celei descrise pentru exemplul TP3, reieșind din compusul din exemplul 26.

¹H RMN (400 MHz, D₂O) δ 7,76 (s, 1H), 6,92 (br s, 1H), 6,85 (br s, 1H), 5,32 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 4,78 (dd, *J* = 8; 6,4 Hz, 1H), 4,53 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H), 4,08 (dd, *J* = 10,0; 4,0 Hz, 1H), 3,83...3,95 (m, 3H), 3,07 (q, *J* = 7,6 Hz, 24 H), 1,16 (t, *J* = 7,6 Hz, 36 H).

³¹P RMN (162 MHz, D₂O) δ -9,44 (d, *J* = 45,6 Hz), -11,51 (d, *J* = 48,8 Hz), -22,95 (t, *J* = 48,4 Hz).

20 SM *m/z* = 555,06 [M+1]. Sistemul SM: Thermo LCQ Advantage



Exemplul 34 (de asemenea PD6) - (2S)-2-etilbutil 2-(((2R,3R,4R,5S)-5-(4-aminopirol[2,1-f][1,2,4]triazin-7-il)-2-cian-4-fluor-3-hidroxitetrahidrofuran-2-il)

25 metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoat

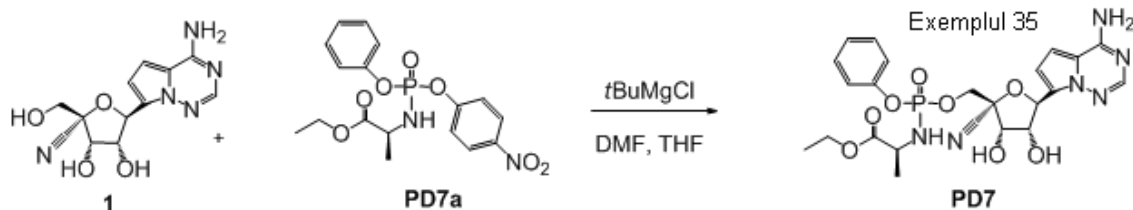
Compusul din exemplul 1 (3,8 mg, 0,013 mmol) se dizolvă în *N*-metil-2-pirolidonă anhidră (0,2 ml) și într-o atmosferă de argon se adaugă THF (0,1 ml). Apoi la temperatura camerei se adaugă clorură de terț-butil magneziu (1M în THF, 20 μl, 0,024 mmol) și se sedimentează o substanță solidă albă. Peste 5 min la amestecul de reacție într-o porție se adaugă o soluție de *p*-nitrofenilfosforamidat PD3c (12 mg, 0,026 mmol) în THF (0,1 ml) și amestecul format se încălzește până la 50°C. Peste 20 h amestecul de reacție se lasă să se răcească până la temperatura camerei și apoi se purifică direct prin CLÎP preparativă (Phenominox Sinergi 4u Hidro-RR 80Å, Coloană 150 x 30 mm, gradient 40...100% acetonitril/apă). Frațiile cu conținut de produs dezirabil se combină și se liofilizează, se obține exemplul 34 (2,9 mg, 37%, amestec diastereomeric 3:2) sub formă de substanță solidă de culoare albă.

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,80 (s, 0.3H), 7,78 (s, 0,6H), 7,38...7,10 (m, 5H), 6,85 (br dd, *J* = 4,7; 2,2 Hz, 1H), 6,75...6,71 (m, 1H), 5,54...5,46 (m, 1H), 4,65...4,58 (m, 1H), 4,53...4,31 (m, 3H), 4,07...3,84 (m, 3H), 1,54...1,39 (m, 1H), 1,38...1,19 (m, 7H), 0,92...0,81 (m, 6H) 29H

³¹P RMN (162 MHz, CD₃OD) δ 3,25 (br s).

CL/SM: *t_R* = 1,55 min, SM *m/z* = 603,19 [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2.6μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% acid acetic, apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min-2,0 min 2...100% ACN, 2,0 min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%...2% ACN, 3,2 min...3,5 min 2% ACN la 2 μl/min.

CLIP: *t_R* = 2,98 min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.



Exemplul 35 (de asemenea PD7) - (2*S*)-etil 2-((((2*R*,3*S*,4*R*,5*S*)-5-(4-aminopirol[2,1-*f*][1,2,4]triazin-7-il)-2-cian-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino) propanoat

Compusul din exemplul 1 (19 mg, 65,3 μmol) se dizolvă în NMP (0,2 ml). La temperatura camerei într-o atmosferă de argon se adaugă THF (0,1 ml) apoi clorură de terț-butil magneziu (soluție 1,0 M în tetrahidrofuran, 0,098 ml). Peste 5 min se adaugă o soluție de compus intermediar PD7a (Preparat printr-o metodă cunoscută [1], 51,4 mg, 130 μmol) în THF (0,1 ml) și amestecul format se încălzește până la 50°C. Peste 1 h amestecul de reacție se lasă să se răcească până la temperatura camerei și se purifică direct prin CLÎP preparativă (Phenominox Sinergi 4u Hidro-RR 80Å, Coloană 150 x 30 mm, gradient 5...100% acetonitril/apă). Frațiile cu conținut de produs se combină și se concentrează și reziduu format se purifică repetat prin CLÎP preparativă (Phenominox Luna 5 μ, Coloană C18 100 x 30 mm, gradient 5...100% acetonitril/apă), se obține compusul din exemplul 35 (12 mg, 34%, amestec de diastereomer 3:2) sub formă de substanță solidă de culoare albă.

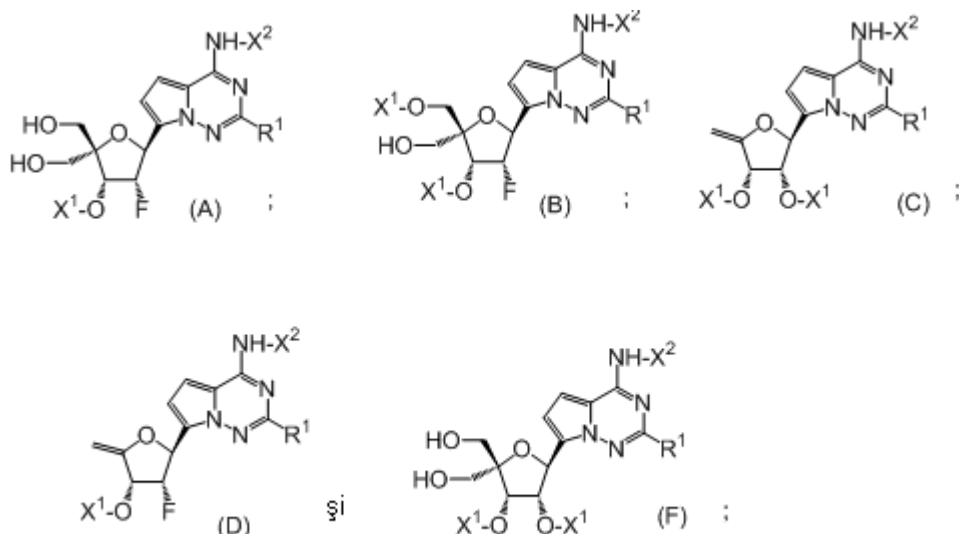
¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,80 (d, *J* = 2,3 Hz, 0,4H), 7,78 (d, *J* = 2,3 Hz, 0,6H), 7,36...7,12 (m, 5H), 6,88...6,81 (m, 1H), 6,76...6,70 (m, 1H), 5,53...5,46 (m, 1H), 4,66...4,60 (m, 1H), 4,55...4,30 (m, 3H), 4,15...3,98 (m, 2H), 3,93...3,79 (m, 1H), 1,30...1,12 (m, 6H).

³¹P RMN (162 MHz, CD₃OD) δ 3,27 (br s).

CL/SM: diastereomerul principal *t_R* = 1,28 min, SM *m/z* = 547,14 [M+H], diastereomerul secundar *t_R* = 1,30 min, SM *m/z* = 547,04 [M+H]; Sistemul CL: Thermo Accela 1250 SCLIP; Sistemul SM: Thermo LCQ Fleet; Coloană: Kinetex 2,6μ XB-C18 100A, 50 x 4,6 mm; Solvenți: Acetonitril cu 0,1% acid acetic, Apă cu 0,1% acid acetic; Gradient: 0 min...2,0 min 2...100% ACN, 2,0 min...3,05 min 100% ACN, 3,05 min...3,2 min 100%...2% ACN, 3,2 min...3,5 min 2% ACN la 2 μl/min.

CLIP: diastereomerul principal *t_R* = 2,44 min, diastereomerul secundar *t_R* = 2,46 min; Sistemul CLIP: Serii Agilent 1100; Coloană: Gemini 5μ C18 110Å, 50 x 4,6 mm; Solvenți: acetonitril cu 0,1% TFA, apă cu 0,1% TFA; Gradient: 0 min...5,0 min 2...98% ACN, 5,0 min...6,0 min 98% ACN la 2 ml/min.

Se propun variante aparte de realizare a prezentei invenții care include, respective, compușii cu formula (A), formula (B), formula (C), formula (D) și formula (E):



in care, in fiecare caz, X^1 reprezintă o grupă protectoare de oxigen și X^2 reprezintă o grupă protectoare de amină.

5 Grupele protectoare de oxigen utilizate includ: o grupă protectoare de eter silicic sau o grupă protectoare de tip benzil, inclusiv grupele metoxibenzil.

10 Grupele protectoare de eter silicic utilizate includ: trimetilsilil (TSM), trietilsilil (TES), timetilizopropilsilil (IPDSM), dietilizopropilsilil (DEIPS), dimetiltexilsilil (TDS), *terț*-butildimetilsilil (TBS sau TBDMS), *terț*-butildifenilsilil (TBDPS), tribenzilsilil, tri-*p*-xililxilil, triizopropilsilil (TIPS), difenilmetsilil (DPSM), di-*terț*-butilmetsilil (DTBSM), trifenilsilil (TPS), metildifenilsilil (MDPS), *terț*-butilmetsilil, tris(trimetilsilil)silil (sisil), (2-hidroxistiril)dimetilsilil (HSDSM), (2-hidroxistiril)diizopropilsilil (HSDIS). Grupele protectoare *terț*-butilmetsilil (TBMPS) și *terț*-butoxidifenilsilil (DPTBOS).

15 Grupele protectoare de tip benzil utilizate includ: grupele protectoare benzil, benzil halogenat, *p*-metoxibenzil, benziloximetil, 2,4-dimetoxibenzil, 3,4-dimetoxibenzil, 2,6-dimetoxibenzil, *p*-CF₃-benzil, *p*-metilbenzil, *p*-metoxilbenzil, 3,5-dimetilbenzil, *p*-*terț*-butilbenzil, *o*-nitrobenzil, *p*-nitrobenzil, *p*-halobenzil, inclusiv *p*-Br-benzil, 2,6-diclorbenzil, *p*-cianbenzil, *p*-fenilbenzil, 2,6-difluorbenzil, *p*-acilaminobenxil (PAB), *p*-azidobenxil (Azb), 4-azido-3-clorbenzil, 2-trifluormetilbenzil, *p*-(metilsulfinil)benzil, 2-picolil, 4-picolil, 3-metil-2-picolil N-oxido, 2-chinolinilmetil, difenilmetil (DPM), *p,p'*-dinitrobenzidril, trifenilmetil, alfa-naftildifenilmetil, *p*-metoxifenildifenilmetil, di(*p*-metoxifenil)fenilmetil, tri(*p*-metoxifenil)metil, 4,4',4''-tris(benzoiloxifenil)metil și 2-naftilmetil.

20 Grupele protectoare amine utilizate includ: grupele protectoare *p*-metoxibenzil carbonil (Moz sau MeOZ), acetil (Ac), benzoil (Bz), *p*-metoxibenzil (PMB), 3,4-dimetoxibenzil (DMPM), *p*-metoxifenil (PMP), tosil (Ts sau Tos), trifluoracetamidă și tritol. Grupele protectoare amine utilizate de asemenea includ: grupele protectoare carbamat și amide. Exemplele de grupe protectoare carbamat includ: metil și etil carbamați, cum ar fi 9-fluorenilmetiloxycarbonil (Fmoc), 9-(2-sulfo)fluorenilmetil, 9-(2,7-dibrom)fluorenilmetil, 17-tetrabenzo[*a,c,g,i*]fluorenilmetil (Tbfmoc), 2-clor-3-indenilmetil (Climoc), benz[*f*]inden-3-ilmetil (Bimoc), 2,7-di-*terț*-butil[9-(10,10-dioxo-10,10,10-tetrahidrotioxanil)]metil (DBD-Tmoc), [2-(1,3-ditianil)metil (Dmoc) și 1,1-dioxobenzo[*b*]tiofene-2-ilmetil (Bsmoc) carbamații.

30 Exemplele de etil carbamați substituiți utilizați includ: 1,1-dimetil-2-cianetil, 2-fosfonioetil (Peoc), 2-metiltioetil, 2-(*p*-toluensulfonil)etil, 2,2,2-tricloretil (Troc), 2-(trimetilsilil)etil (Teoc), 2-feniletil (hZ), 1-(1-adamantil)-1-metiletil (Adpoc), 1,1-dimetil-2-brometil, 1,1-dimetil-2-cloretil, 1,1-dimetil-2,2-dibrometil (DB-*t*-BOC), 1,1-dimetil-2,2,2-tricloretil (TCBOC), 1-metil-1-(4-bifenilil)etil (Bpoc), 1-(3,5-di-*terț*-butilfenil)-1-metiletil (*terț*-Bumeoc), 2-(2'-piridil)etil, 2-(4'-piridil)etil, 2,2-bis(4'-nitrofenil)etil (Bnpeoc), *N*-(2-pivaloilamino)-1,1-dimetiletil, 2-[(2-nitrofenil)ditio]-1-feniletil (NpSSPeoc), 2-(*N,N*-diciclohexilcarboxamido)etil, *terț*-butil (Boc sau BOC), 1-adamantil (1-Adoc), 2-adamantil (2-Adoc), vinil (Voc), alil (Aloc sau alloc), 1-izopropilalil (Ipaoc), cinamil (Coc), 4-nitrocinaamil (Noc), 3-(3'-piridil)prop-2-enil (Paloc), 8-chinolil și *N*-hidroxipiperidinil, carbamați, precum și alchilditio carbamați, inclusiv metilditio, etilditio, izopropilditio, *terț*-butilditio și fenilditio carbamați.

40 Se utilizează, de asemenea, carbamați cu conținut de aril și carbamați cu conținut de aril substituiți, cum ar fi benzil, *p*-metoxibenzil, *p*-nitrobenzil, *p*-brombenzil, *p*-clorbenzil, 2,4-diclorbenzil, 4-

metilsulfonilbenzil (SMz), 9-antrilmetil, 4-metiltiofenil (Mtpc), 1-metil-1-(trifenilfosfoniu)etil (2-trifenilfosfonioizopropil) (Ppoc), 2-dansiletil (Dnseoc), 2-(4-nitrofenil)etil (Npoc), 4-fenilacetoxibenzil (PhAcOZ), 4-azidobenzil (ACBZ), 4-azidometoxibenzil, *m*-clor-*p*-aciloxibenzil, *p*-(dihidroxiboril)benzil, carbobenziloxi (Cbz), 4-benzizoxazolilmetil (Bic), 2-(trifluormetil)-6-cromonilmetil (Tcroc), fenil și difenilmetil carbamații. Carbamații adiționali includ: butinil, ciclopentil, ciclohexil, ciclopropilmetil, 1-metilciclobutil, 1-metilciclohexil, 1,1-dimetilpropinil și 1-metil-1-ciclopropilmetil carbamații.

Grupele de protecție amide utilizate pentru amine include: *N*-formil, *N*-acetil, *N*-cloracetil, *N*-tricloraacetil, *N*-trifluoraacetil (TFA), *N*-fenilacetil, *N*-3-fenilpropionil, *N*-4-pentenoil, *N*-picolinoil, *N*-3-piridilcarboxamido, *N*-benzoilfenilalanil, *N*-benzoil și *N*-*p*-fenilbenzoil amidele.

Activitatea antivirală

O altă variantă de realizare a prezentei invenții se referă la metodele de inhibare a infecțiilor virale, care includ etapa de tratare a mostrei sau subiectului, suspectat de necesitatea unei asemenea inhibări cu o compoziție, conform prezentei invenții.

Mostrele examinate în prezentul context, suspectate de a conține virus, includ materiale naturale sau artificiale, cum ar fi organismele vii; țesuturi sau culturi de celule, probe biologice, cum ar fi probe de material biologic (sânge, ser, urină, lichid cerebrospinal, lacrimi, spută, salivă, probe de țesuturi, etc.); probe de laborator; produse alimentare, probe de apă sau aer; probe de produse biologice, cum ar fi extracte de celule, în special de celule recombinante, care sintetizează glicoproteina dezirabilă; etc. De regulă, mostra conține un organism care induce infecția virală, mai frecvent un organism patogen, cum ar fi virusul tumorii. Probele se pot conține în orice mediu, incluzând apă și amestecuri de solvenți organici/apă. Probele includ organisme vii, cum ar fi oameni, și materiale sintetice, cum ar fi culturi de celule.

La dorință, activitatea antivirală a compusului după aplicarea compoziției poate fi cercetată prin orice metodă, incluzând metodele directe și indirecte de detectare a unei asemenea activități. Sunt prevăzute toate metodele de determinare a unei asemenea activități - cantitative, calitative și semicantitative. De obicei se aplică una din metodele de screening, descrise mai sus, însă, orice altă metodă, cum ar fi observarea proprietăților fiziologice ale organismului viu, de asemenea este aplicabil.

Activitatea antivirală a unui compus poate fi măsurată folosind protocoalele standard de screening, care sunt cunoscute. De exemplu, activitatea antivirală a unui compus poate fi estimată folosind următoarele protocoale generale.

Analiza activității antivirale împotriva virusului sincitial respirator (RSV) și analiza citotoxicității

Activitatea Anti-RSV

Activitatea antivirală împotriva RSV s-a determinat utilizând testul de protecție a celulelor împotriva infecției cu celule citopatice pe celule din linia celulară HEP-2. În această analiză compuşii, care inhibă infecția virală și/sau replicarea virală, produc un efect citoprotector împotriva distrugerii celulelor, indusă de virus, care poate fi cuantificat utilizând un reagent al viabilității celulare. Metodele, utilizate în această descriere, reprezintă adaptări noi ale metodelor descrise în literatura de specialitate (Chapman et al., Antimicrob Agents Chemother. 51(9), 2007, p. 3346-3353).

Celulele HEP-2 au fost obținute de la ATCC (Manassas, VI) și menținute în mediu MEM suplimentat cu 10% ser fetal de bovină și penicilină/streptomycină. Celulele erau recultivate de două ori pe săptămână și erau menținute în etapa subconfluentă. Materialul comercial de RSV tulpina A2 (Advanced Biotechnologies, Columbia, MD) era titrat înainte de testarea compusului pentru determinarea diluției corespunzătoare de material viral, care genera efectul citopatic dezirabil în celulele HEP-2.

Pentru cercetările antivirale celulele HEP-2 erau cultivate în baloane mari pentru cultivarea celulelor aproape până la confluență, dar nu completă. Compușii, care urmau a fi testați, erau diluați în prealabil în DSMO în plăci cu 384 godeuri pentru diluarea compuşilor în format doză-răspuns standardizat sau în număr de 8, sau în număr de 40 probe pe placă. S-a efectuat diluția triplă în serie a fiecărui compus testat pe plăci și probele studiate erau transferate cu un aparat de transfer acustic (Echo, Labcyte) la 100 nl per godeu pe placă cu 384 godeuri pentru analiza culturii celulare. Fiecare diluție a compusului era transferată sub formă de probe de una sau patru mostre repetate pe plăci uscate pentru analiză, care se păstrau până analiza era gata de realizare. Controalele pozitive și negative erau amplasate în părți opuse ale plăcii în sectoare verticale (1 Coloană).

După aceasta s-a preparat amestecul infecțios utilizând diluție corespunzătoare de material viral, determinată în prealabil prin titrare cu celule la o desistare de 50000/ml și s-au adăugat 20 μl/godeu pe plăci de testare w/compus prin automată (uFlow, Biotek). Fiecare placă includea controlul pozitiv și controlul negativ (16 repetări fiecare), pentru crearea a 0% și 100% standard de inhibare a virusului, respectiv. După infectare cu RSV plăcile de testare erau incubate timp de 4 zile la 37°C într-un

incubator pentru culturi celulare. După incubare în plăcile de testare s-a adăugat reagentul pentru controlul viabilității celulare Cell TiterGlo (Promega, Madison, WI), s-au incubat rapid și pe toate plăcile de testare s-a determinat valoarea înregistrată a luminiscentei (Envision, Perkin Elmer). Efectul citopatic RSV-indus, procentul de inhibare, erau determinate după gradul de viabilitate al celulelor rămase. Acești indicatori cantitativi erau calculați pentru fiecare concentrație studiată în raport cu 0% și 100% controale de inhibare și valoarea EC₅₀ pentru fiecare compus s-a determinat prin regresie neliniară sub formă de concentrație de compus, care inhibă efectul citopatic RSV-indus cu 50%. În calitate de controale pozitive pentru activitatea antivirală s-au utilizat diferiți compuși eficienți experimentalmente anti-RSV.

10 Analiza citotoxicității în celulele HEp-2

Citotoxicitatea compușilor testați a fost determinată pe celule HEp-2 neinfectate în paralel cu studierea activității antivirale, folosind reagentul pentru controlul viabilității celulelor printr-o modalitate similară celei descrise mai sus pentru alte tipuri de celule (Cihlar et al., Antimicrob. Agents Chemother. 52(2), 2008, p. 655-665). Pentru determinarea citotoxicității compusului s-a folosit același protocol, care s-a folosit și pentru determinarea activității antivirale, cu excepția că celulele nu erau infectate cu RSV. Din contra, amestecul de celule neinfectate în aceeași densitate se adăuga câte 20 μl/godeu pe plăci care conțineau diluții preliminare ale compușilor, precum și la 100 nl/probă. Plăcile erau apoi incubate timp de 4 zile cu verificarea ulterioară a viabilității celulare, folosind aceeași adăugare de reagent CellTiter Glo și determinarea valorii înregistrate a luminiscentei. Celulele netratate și celulele tratate cu 2 μM de puromicină (Sigma, St. Louis, MO) au servit în calitate de 100% și 0% de control al viabilității celulelor, respectiv. Procentul viabilității celulare se calcula pentru fiecare concentrație de compus testat, comparativ cu controlul 0% și 100%, și valoarea CC₅₀ s-a determinat prin regresie neliniară sub formă de concentrație de compus, care restabilește viabilitatea celulelor cu 50%.

Analiza citotoxicității pe celulele MT-4

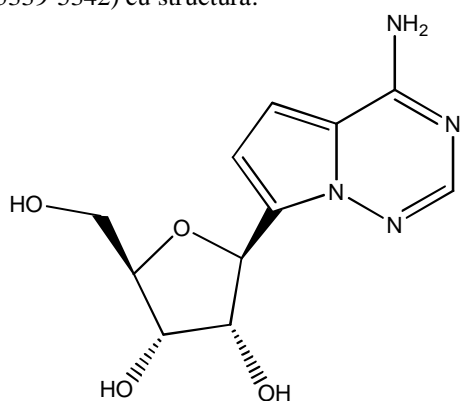
25 Linia de celule MT-4 a fost livrată de NIH AIDS Research and Reference Reagent Program (Germantown, MD) și cultivată în mediu RPMI-1640 (Irvine Scientific, Santa Ana, CA, Cat # 9160), suplimentat cu 10% FBS, 100 unități/ml de penicilină, 100 unități/ml de streptomycină și 2 mM de L-glutamină. Celulele MT-4 erau recultivate de două ori pe săptămână pentru menținerea densității celulelor sub 0,6×10⁶ celule/ml. Mediul complet RPMI-1640, care conținea concentrații 100× de compus diluat de trei ori în serie, în limite de 26 nM până la 530 μM, a fost ștanțat în patru repetări în plăci negre cu 384 de godeuri. După adăugarea compusului în fiecare godeu cu un dozator de lichide MicroFlo (BioTek, Winooski, VT) s-au adăugat 2×10³ celule MT-4 și celulele erau cultivate timp de 5 zile la 37°C într-un incubator cu 5% CO₂. După incubare celulele erau echilibrate până la 25°C și viabilitatea celulelor se determina prin adăugarea a 25 μl de reagent pentru controlul viabilității celulare Cell-Titer Glo. Amestecul se incuba timp de 10 min la 25°C și semnalul de luminiscentă era cuantificat pe o placă cititor al luminiscentei Victor. Valoarea CC₅₀ era definită ca concentrație de compus, care reduce viabilitatea celulelor cu 50%, determinată cu semnalul Cell-Titer Glo. Datele au fost analizate utilizând software pentru colectarea și analiza datelor Pipeline Pilot Plate Data Analytics Collection (versiunea 7.0, Accelrys, San Diego, CA). Valorile CC₅₀s-au calculat prin analiza regresiei neliniare utilizând ecuația cu 4 parametri a curbei sigmoidale doză-efect: $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{[(\text{LogCC50} - X) * \text{coeficientul Hill}]})$, în care sus (Top) și jos (Bottom) erau fixate la nivel de 100% și 0% de viabilitate celulară, respectiv. Valorile CC₅₀ au fost calculate ca valoare medie ±deviație standard din 3 experimente independente.

45

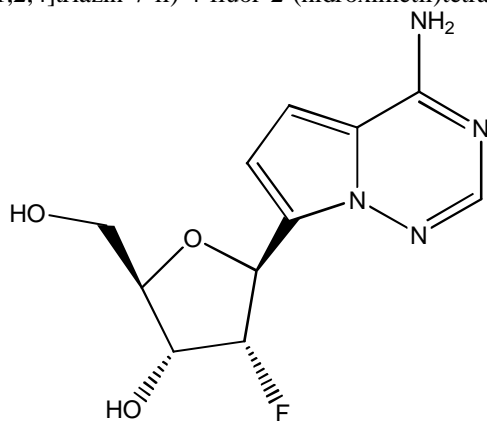
Exemplul	EC ₅₀ / μM	HEp-2 CC ₅₀ / μM	MT-4 CC ₅₀ / μM
1	7,3	>50	>53
2	9,6	>100	>106
3	2,0	>100	>106
4	30	>50	>53
5	2,1	>50	>53
10 (PD1)	1,0	39	7,3
11 (PD2)	1,2	42	19,7
12 (PD3)	3,0	>50	27
13	10,5	>100	>106
14	40	>100	>106
15 (PD4)	1,6	35	7,9
16 (PD5)	0,3	18	25

19	0,40	>44	16
20	>50	>50	
21	50	36	15
22	0,57	>100	32
23	23,5	72	21
24	1,0	>100	11
25	9,2	>100	>93
26	>50	42	>57
34 (PD6)	0,21	>50	>50
35 (PD7)	0,34	>50	47

- 5 Încă un beneficiu este în legătură cu avantajul, asigurat de compușii, care conțin substituția R⁴, comparativ cu compușii fără substituția R⁴ (adică, acei în care R⁴ = H) în ceea ce privește citotoxicitatea MT-4. De exemplu, compusul (2*S*,3*R*,4*S*,5*R*)-2-(4-aminopirrol[1,2-*f*][1,2,4]triazin-7-il)-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3,4-diol (Patil S. A., Otter R. A., Klein R. S. Tetrahedron Lett. 35, 1994, p. 5339-5342) cu structura:



- 10 demonstrează MT-4 CC₅₀ = 0,007 μM; în timp ce compușii din exemplele 1, 4, 5, 20 și 26, toți demonstrează MT-4 CC₅₀ > 53 μM. În continuare compusul (2*R*,3*R*,4*R*,5*S*)-5-(4-aminopirrol[1,2-*f*][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluor-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ol [12] cu structura:



- 15 demonstrează MT-4 CC₅₀ = 30 μM; în timp ce compușii din exemplele 2, 3, 13 și 14, toți demonstrează MT-4 CC₅₀ > 106 μM.
Un alt beneficiu este determinat de avantajul, asigurat de compușii R³ = F cu substituția R⁴, cu compușii fără substituția R⁴ (adică, acei în care R⁴ = H), în privința activității HEp-2 anti-RSV. De exemplu, compusul (2*R*,3*R*,4*R*,5*S*)-5-(4-aminopirrol[1,2-*f*][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluor-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ol [12] cu structura, prezentată mai sus, are HEp-2 EC₅₀ = >100 μM; în timp ce compușii din exemplele 2, 3, 13, 14, 19, 21, 22, 23 și 24, toți demonstrează EC₅₀ = <100 μM.

- 20 **Prepararea RSV RNP**
Complexele ribonucleoproteice RSV (RNP) se prepară printr-o metodă modificată de Mason et al. (<http://www.cdc.gov/rsv/index.html>). Celulele HEp-2 au fost cultivate la o densitate a celulelor de 7,1 x 10⁴ cel./cm² în MEM + 10% ser fetal de bovină (FBS) și lăsate să se stabilizeze peste noapte la 37°C (5% CO₂). După atașament celulele au fost infectate cu RSV A2 (MOI=5) în 35 ml MEM + 2% FBS. Peste 20 h după infectare mediul era înlocuit cu MEM + 2% FBS suplimentat cu 2 μg/ml de

actinomicină D și reîntors la 37°C pentru o oră. Apoi celulele au fost spălate o singură dată cu PBS și tratate cu 35 ml of PBS + 250 μg/ml lizo-lecitină pentru 1 min, apoi tot lichidul se aspira. Celulele s-au colectat prin raclarea lor în 1,2 ml de tampon A [50 mM TRIS acetat (pH 8,0), 100 mM acetat de potasiu, 1 mM DTT și 2 μg/ml de actinomicină D] și au fost lizate prin trecere multiplă printr-o seringă cu ac de calibrul 18 (10 ori). Lizatul celular a fost plasat pe gheață timp de 10 min și apoi centrifugat la 2400g timp de 10 minute la 4°C. Supernatantul (S1) s-a eliminat și sedimentul (P1) a fost restabilit în 600 μl de tampon B [10 mM TRIS acetat (pH 8,0), 10mM acetat de potasiu și 1,5 mM MgCl₂] suplimentat cu 1% Triton X-100 la trecerea repetată printr-un ac de calibrul 18 (10 ori). Sedimentul resuspendat a fost plasat pe gheață pentru 10 min și apoi centrifugat la 2400g timp de 10 min la 4°C. Supernatantul (S2) s-a eliminat și sedimentul (P2) a fost restabilit în 600 μl de tampon B suplimentat cu 0,5% deoxicolat și 0,1% Tween 40. Sedimentul resuspendat a fost plasat pe gheață pentru 10 min și apoi centrifugat la 2400g timp de 10 min la 4°C. Supernatantul (S3), fracția cu conținut de complexe RSV RNP îmbogățite au fost colectate și concentrația de proteină s-a determinat după absorbția UV la 280 nm. Alicote de fracții RSV RNP S3 au fost păstrate la -80°C.

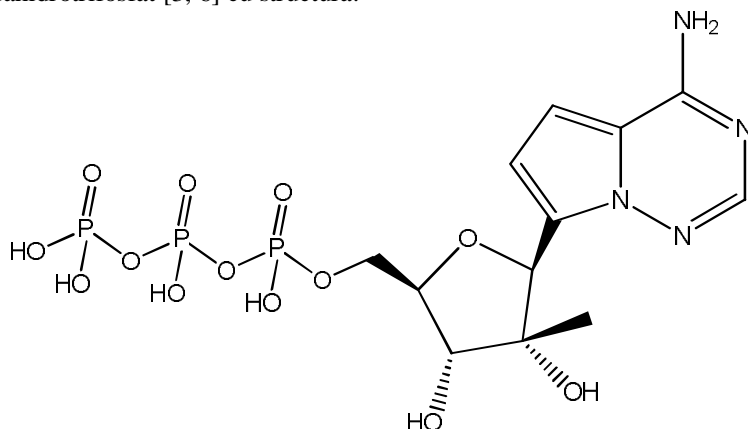
15 Analiza RSV RNP

Amestecul de reacție pentru transcripție conținea 25 μg de complexe RSV RNP brute în 30 μl de tampon de reacție [50 mM TRIS-acetat (pH 8,0), 120 mM acetat de potasiu, 5% glicerol, 4,5 mM MgCl₂, 3 mM DTT, 2 mM tetraacid etilenglicol-bis(2-aminoetileter)-acetic EGTA), 50 μg/ml BSA, 2,5 U RNazină (Promega), ATP, GTP, UTP, CTP și 1,5 μCi [α -³²P] NTP (3000 Ci/mmol)]. Nucleotida radiomarcată, utilizată în analiza transcripției, a fost selectată în conformitate cu analogul nucleotid, evaluat pe inhibarea transcripției RSV RNP. NTP competitivă rece s-a adăugat la o concentrație finală de jumătate din K_m ei (ATP= 20 μM, GTP= 12,5 μM, UTP= 6 μM și CTP= 2 μM). Celelalte trei nucleotide s-au adăugat la o concentrație finală de 100 μM.

Pentru a determina dacă inhibă analogii nucleotidelor RSV RNP transcripția, s-au adăugat compușii utilizând diluția în serie în 6 etape cu mărirea volumului de 5 ori. După 90 min de incubare la 30°C, reacțiile RNP erau stopate cu 350 μl de tampon de liză Qiagen RLT și ARN se purifica utilizând kitul Qiagen RNeasy 96. ARN purificat era denaturat în tampon de încărcare pentru probe de ARN (Sigma) la 65°C timp de 10 min și condus pe gel de 1,2% agaroză/MOPS cu conținut de 2M formaldehidă. Gelul de agaroză se usca și se expunea pe ecranul luminofor Storm (GE Healthcare). Concentrația de compus, care reduce transcripturile radiomarcate generale cu 50% (IC₅₀), era calculată prin analiza de regresie neliniară în două replicări (Mason, S., Lawetz, C., Gaudette, Y., Do, F., Scouten, E., Lagace, L., Simoneau, B., Liuzzi, M. Polyadenylation-dependent screening assay for respiratory syncytial virus RNA transcriptase activity și identification of an inhibitor. Nucleic Acids Research, 32, 2004, p. 4758-4767).

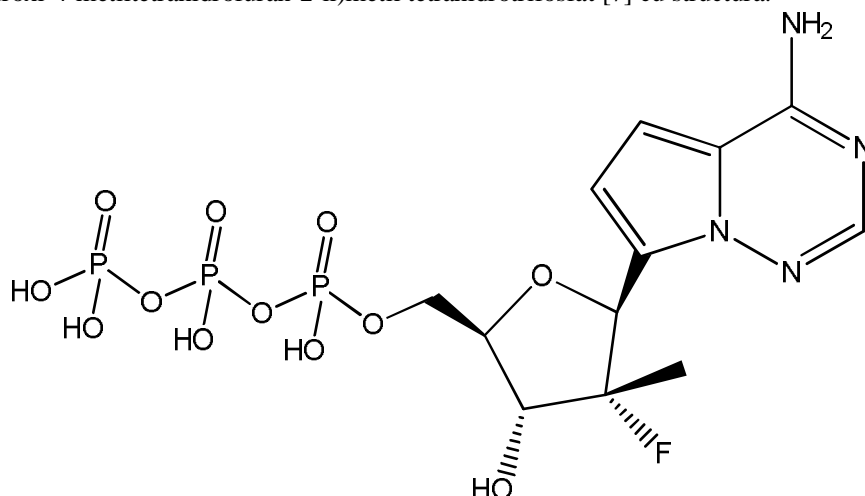
Exemplul	IC ₅₀ / μM
6 (TP1)	0,086
7 (TP2)	1
8 (TP3)	0,025
9 (TP4)	0,12
17 (TP5)	0,56
18 (TP6)	0,42
27 (TP7)	0,097
28 (TP8)	0,086
29 (TP9)	0.080
30 (TP10)	
31 (TP11)	
32 (TP12)	0,022
33 (TP13)	

Încă un beneficiu se referă la avantajul compușilor, arătat în exemple, care demonstrează inhibarea puternică a transcripției RSV RNP, comparative cu compușii cu substituție 2'CMe. De exemplu, ((2*R*,3*R*,4*R*,5*S*)-5-(4-aminopirrol[2,1-*f*][1,2,4]triazin-7-il)-3,4-dihidroxi-4-metiltetrahidrofuran-2-il)metil tetrahidrotrifosfat [3, 6] cu structura:



5

demonstrează $IC_{50} = 8,5 \mu M$; în timp ce compusul din exemplul TP3 demonstrează $IC_{50} = 0,025 \mu M$. Mai mult decât atât, compusul ((2*R*,3*R*,4*R*,5*S*)-5-(4-aminopirrol[2,1-*f*][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluor-3-hidroxi-4-metiltetrahidrofuran-2-il)metil tetrahidrotrifosfat [7] cu structura:



10

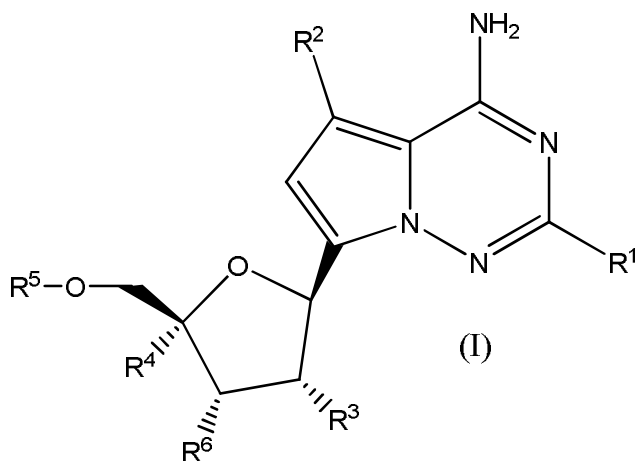
demonstrează $IC_{50} = >100 \mu M$; în timp ce compusul din exemplul TP1 demonstrează $IC_{50} = 0,086 \mu M$ și compusul din exemplul TP2 demonstrează $IC_{50} = 1 \mu M$.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. US 2012009147 (A1) 2012-01-12
2. US 2012020921 (A1) 2012-01-26
3. WO 2008089105 (A2) 2008-07-24
4. WO 2008141079 (A1) 2008-11-20
5. WO 2009132135 (A1) 2009-10-29
6. WO 2010002877 (A2) 2010-01-07
7. WO 2011035231 (A1) 2011-03-24
8. WO 2011035250 (A1) 2011-03-24
9. WO 2011150288 (A1) 2011-12-01
10. WO 2012012465 (A1) 2012-01-26
11. WO 2012012776 (A1) 2012-01-26
12. WO 2012037038 (A1) 2012-03-22
13. WO 2012087596 (A1) 2012-06-28
14. WO 2012142075 (A1) 2012-10-18

(57) Revendicări:

1. Compus cu formula (I) sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia:



in care:

R¹ reprezintă H sau F;

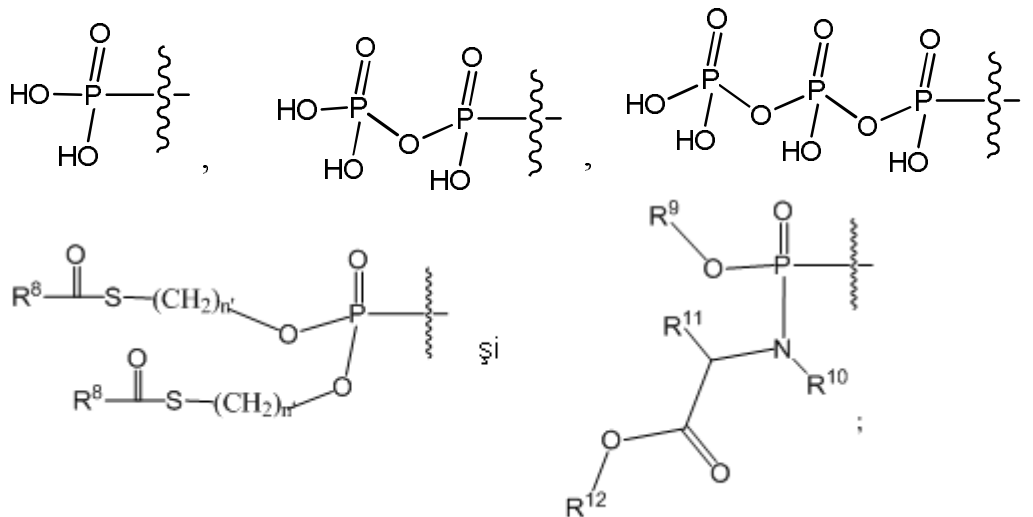
R² reprezintă H sau F;

R³ reprezintă OH sau F;

R⁴ reprezintă CN, C₁-C₄ alchil, C₂-C₄ alchenil, C₂-C₄ alchinil, C₃-C₄ cicloalchil, azido, halogen sau C₁-C₂ haloalchil;

R⁶ reprezintă OH;

R⁵ se selectează din grupa, care include H și:

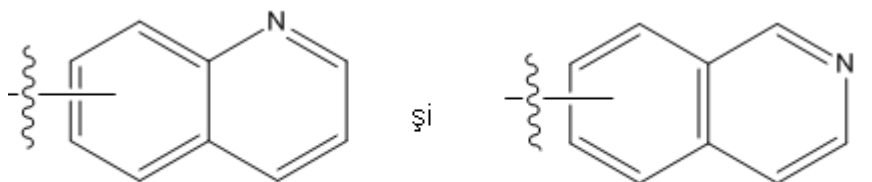


in care:

n' se selectează dintre 1, 2, 3 și 4;

R⁸ se selectează dintre C₁-C₈ alchil, -O-C₁-C₈ alchil, benzil, -O-benzil, -CH₂-C₃-C₆ cicloalchil, -O-CH₂-C₃-C₆ cicloalchil și CF₃;

R⁹ se selectează dintre fenil, 1-naftil, 2-naftil,



R¹⁰ se selectează dintre H și CH₃;

R¹¹ se selectează dintre H sau C₁-C₆ alchil;

R¹² se selectează dintre H, C₁-C₈ alchil, benzil, C₃-C₆ cicloalchil și -CH₂-C₃-C₆ cicloalchil.

2. Compus, conform revendicării 1, sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R¹ reprezintă H.

3. Compus, conform revendicării 1, sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R² reprezintă H.

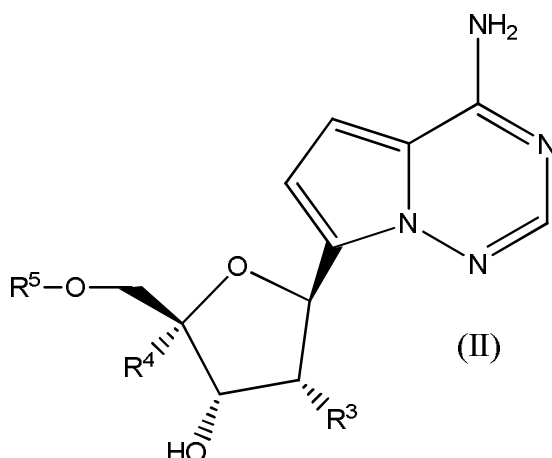
4. Compus, conform revendicărilor 1-3, în care ambii R¹ și R² reprezintă H.

5. Compus, conform revendicărilor 1-4, sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R¹, R² și R⁵ reprezintă H.

6. Compus, conform revendicărilor 1-5, sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R¹ și R² reprezintă H și R³ reprezintă OH.

7. Compus, conform revendicărilor 1-5, sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R¹ și R² reprezintă H și R³ reprezintă F.

8. Compus, conform oricărei din revendicările 1-4, sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, cu formula (II):

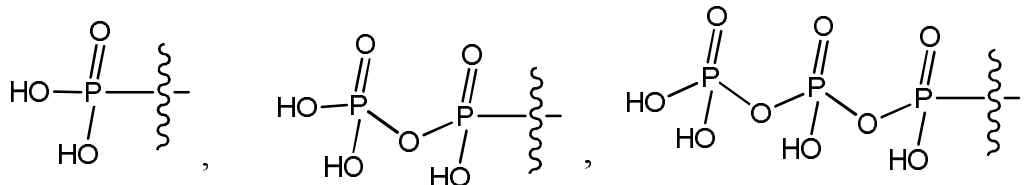


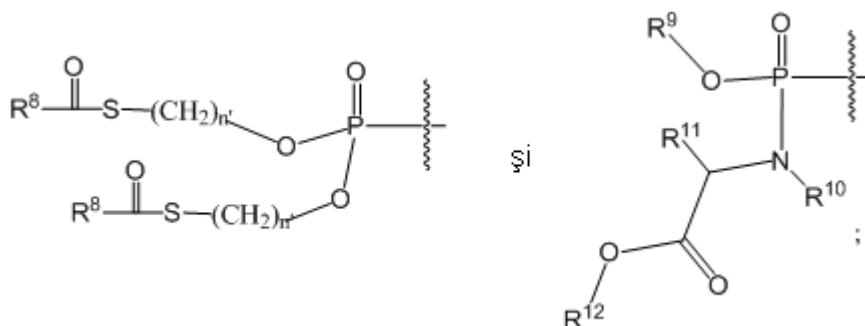
în care:

R³ reprezintă OH sau F;

R⁴ reprezintă CN, C₁-C₄ alchil, C₂-C₄ alchenil, C₂-C₄ alchilil, C₃-C₄ cicloalchil, azido, halogen sau C₁-C₂ haloalchil;

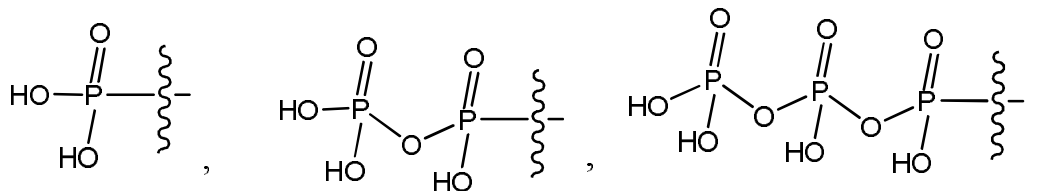
R⁵ se selectează din grupa care include H și:

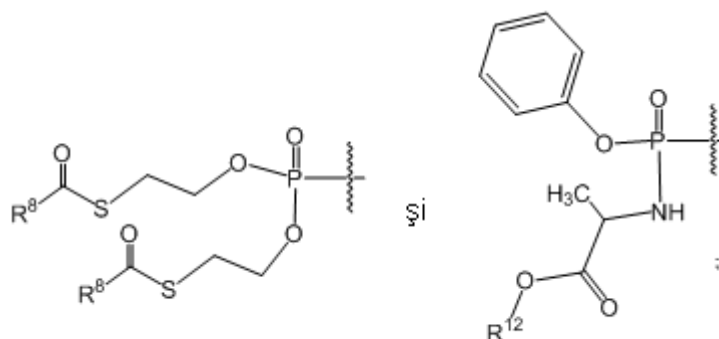




in care:

- n' se selectează dintre 1, 2, 3 și 4;
 - R⁸ se selectează dintre C₁-C₈ alchil, -O-C₁-C₈ alchil, benzil, -O-benzil, -CH₂-C₃-C₆ cicloalchil, -O-CH₂-C₃-C₆ cicloalchil și CF₃;
 - R⁹ reprezintă fenil;
 - R¹⁰ se selectează dintre H și CH₃;
 - R¹¹ se selectează dintre H sau C₁-C₆ alchil;
 - R¹² se selectează dintre H, C₁-C₈ alchil, benzil, C₃-C₆ cicloalchil și -CH₂-C₃-C₆ cicloalchil.
9. Compus, conform oricărei din revendicările 1-8 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, in care R⁴ reprezintă CN, metil, etil, etenil, etinil, azido, F, Cl, -CH₂Cl, -CH₂F, -CHF₂ sau -CF₃.
10. Compus, conform oricărei din revendicările 1-5 și 7-9 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, in care R³ reprezintă F.
11. Compus, conform oricărei din revendicările 1-6 și 8-9 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, in care R³ reprezintă OH.
12. Compus, conform oricărei din revendicările 1-5 și 7-10 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, in care in care R³ reprezintă F și R⁴ reprezintă CN.
13. Compus, conform oricărei din revendicările 1-6, 8-9 și 11 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, in care in care R³ reprezintă OH și R⁴ reprezintă CN.
14. Compus, conform oricărei din revendicările 1-5 și 7-10 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, in care ambii R¹ și R² reprezintă H, R³ reprezintă F și R⁴ reprezintă metil, etil, vinil sau etinil.
15. Compus, conform oricărei din revendicările 1-6 și 8-9 și 11 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R³ reprezintă OH și R⁴ reprezintă metil, etil, vinil sau etinil.
16. Compus, conform oricărei din revendicările 1-5 și 7-10 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, in care R³ reprezintă F și R⁴ reprezintă halometil.
17. Compus, conform oricărei din revendicările 1-6, 8-9 și 11 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R³ reprezintă OH și R⁴ reprezintă halometil.
18. Compus, conform oricărei din revendicările 1-17 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, in care R⁵ reprezintă H.
19. Compus, conform oricărei din revendicările 1-17 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, in care R⁵ se selectează din grupa, care include:





in care:

R^8 se selectează dintre C_1 - C_8 alchil, $-O$ - C_1 - C_8 alchil, benzil și $-CH_2$ - C_3 - C_6 cicloalchil; și

R^{12} se selectează dintre C_1 - C_8 alchil, benzil, C_3 - C_6 cicloalchil și $-CH_2$ - C_3 - C_6 cicloalchil.

20. Compus, conform oricărei din revendicările 1-4, 6-17 și 19 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R^8 reprezintă C_1 - C_8 alchil.

21. Compus, conform oricărei din revendicările 1-4, 6-17 și 19-20 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R^8 reprezintă C_1 - C_6 alchil.

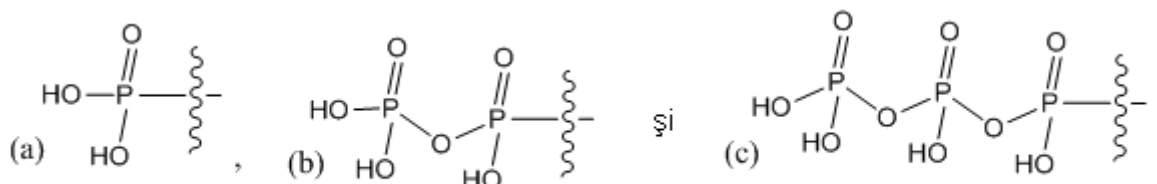
22. Compus, conform oricărei din revendicările 1-4, 6-17 și 19-21 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R^8 și R^{12} reprezintă C_1 - C_5 alchil.

23. Compus, conform oricărei din revendicările 1-4, 6-17 și 19-22 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R^8 și R^{12} reprezintă C_1 - C_4 alchil.

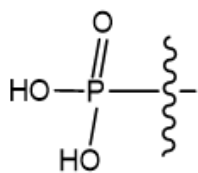
24. Compus, conform oricărei din revendicările 1-11, 16-23 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R^4 reprezintă CH_2Cl sau CH_2F .

25. Compus, conform oricărei din revendicările 1-5, 7-10, 12, 14, 16 și 18-23 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, cu condiția suplimentară, în cazul în care R^3 reprezintă F, R^4 nu reprezintă metil.

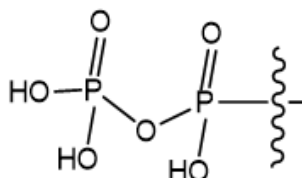
26. Compus, conform oricărei din revendicările 1-25 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R^5 se selectează din grupa, care include H și:



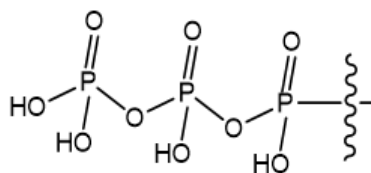
27. Compus, conform oricărei din revendicările 1-4, 6-17 și 19-26 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R^5 reprezintă:



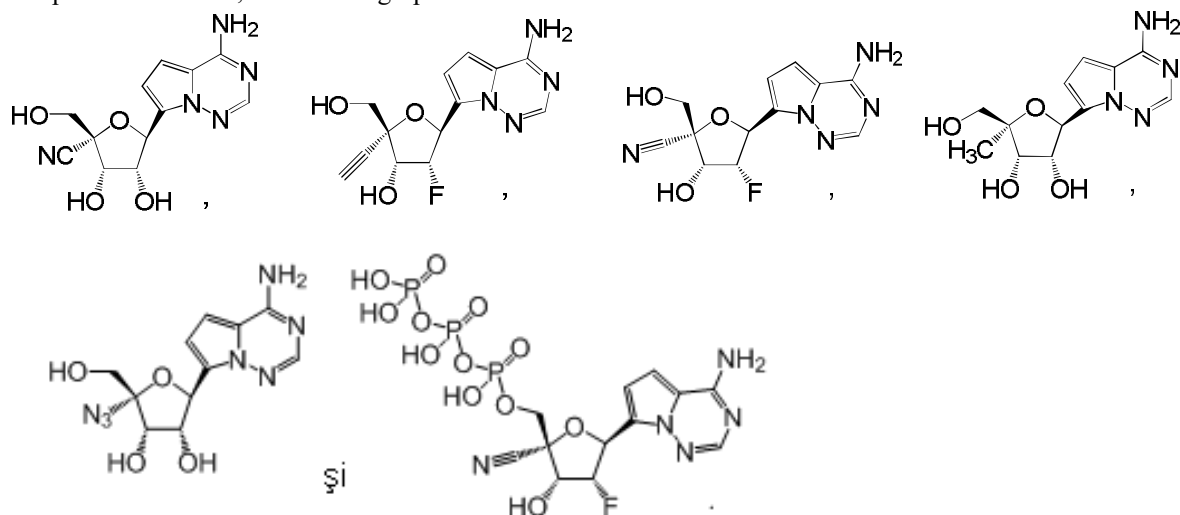
28. Compus, conform oricărei din revendicările 1-4, 6-17 și 19-26 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R^5 reprezintă:



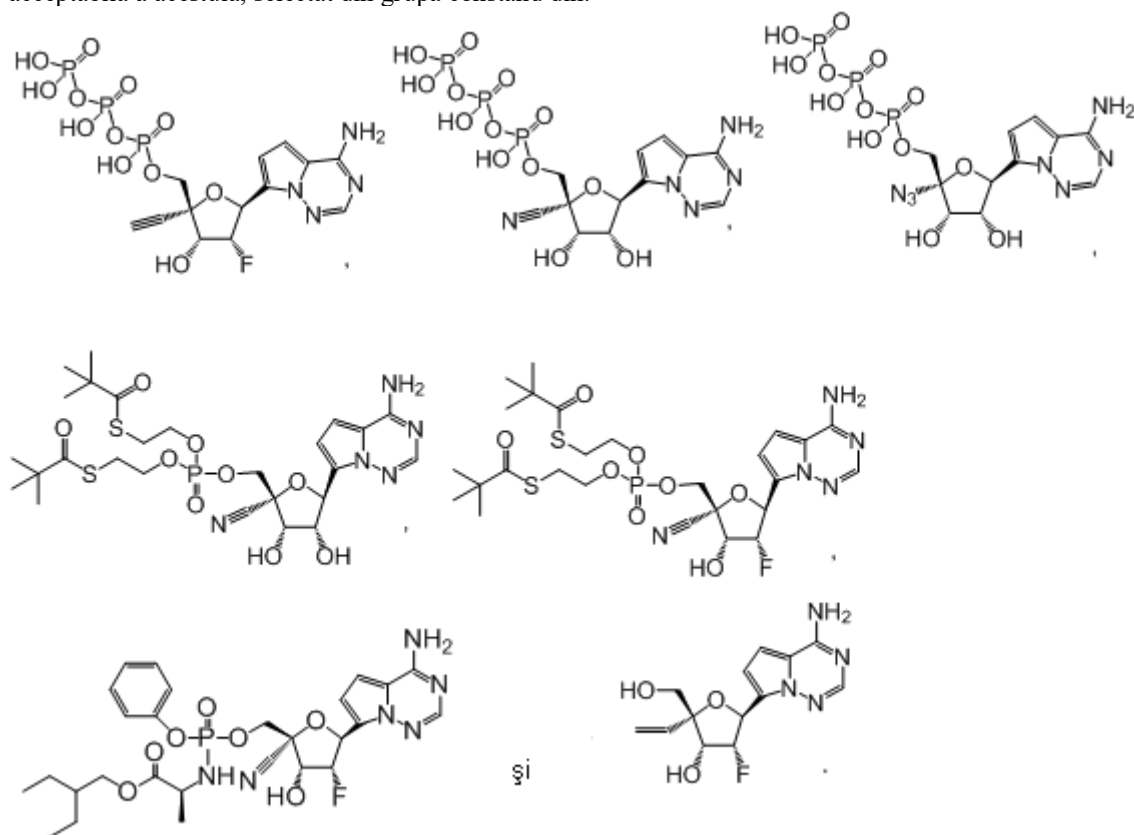
29. Compus, conform oricărei din revendicările 1-4, 6-17 și 19-26 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R^5 reprezintă:



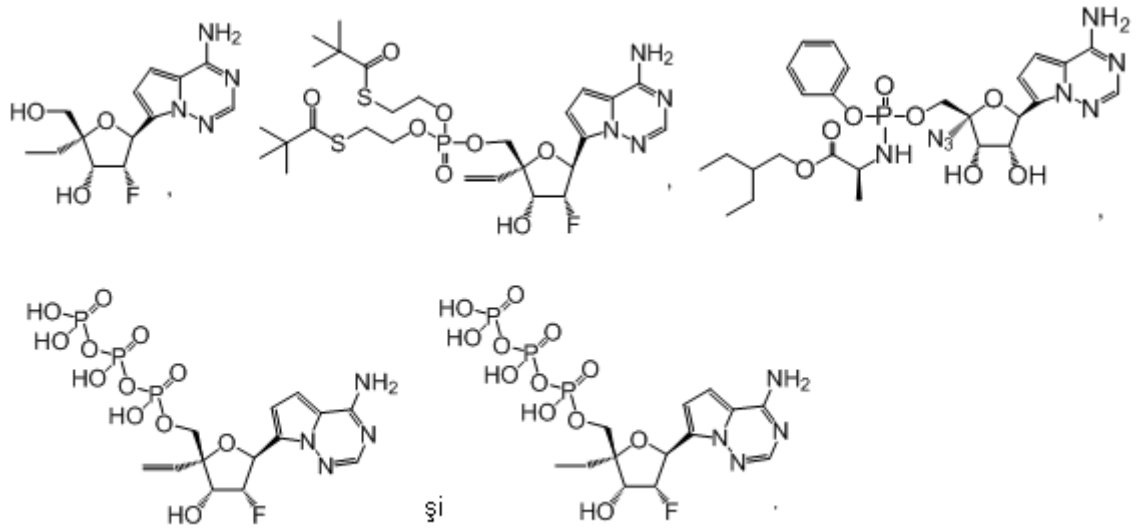
30. Compus, conform oricărei din revendicările 1-15, 18-19, 25-26 și 29 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, selectat din grupa constând din:



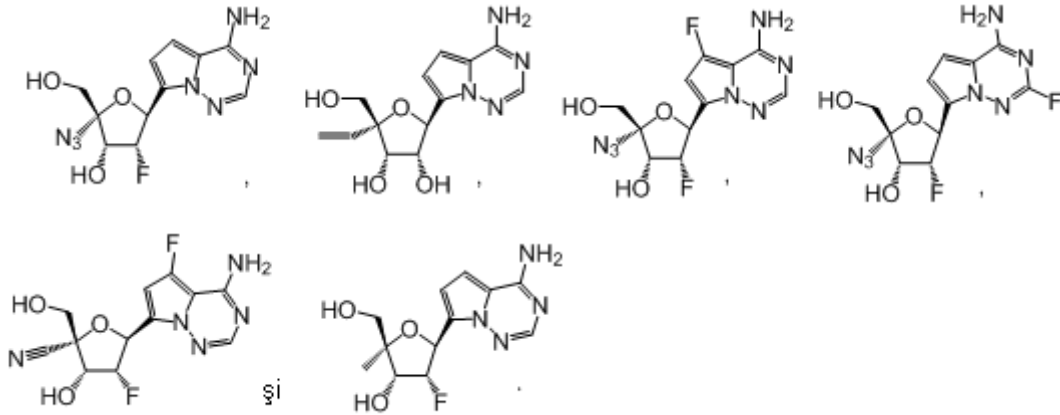
31. Compus, conform oricărei din revendicările 1-14, 18-21, 25-26 și 29 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, selectat din grupa constând din:



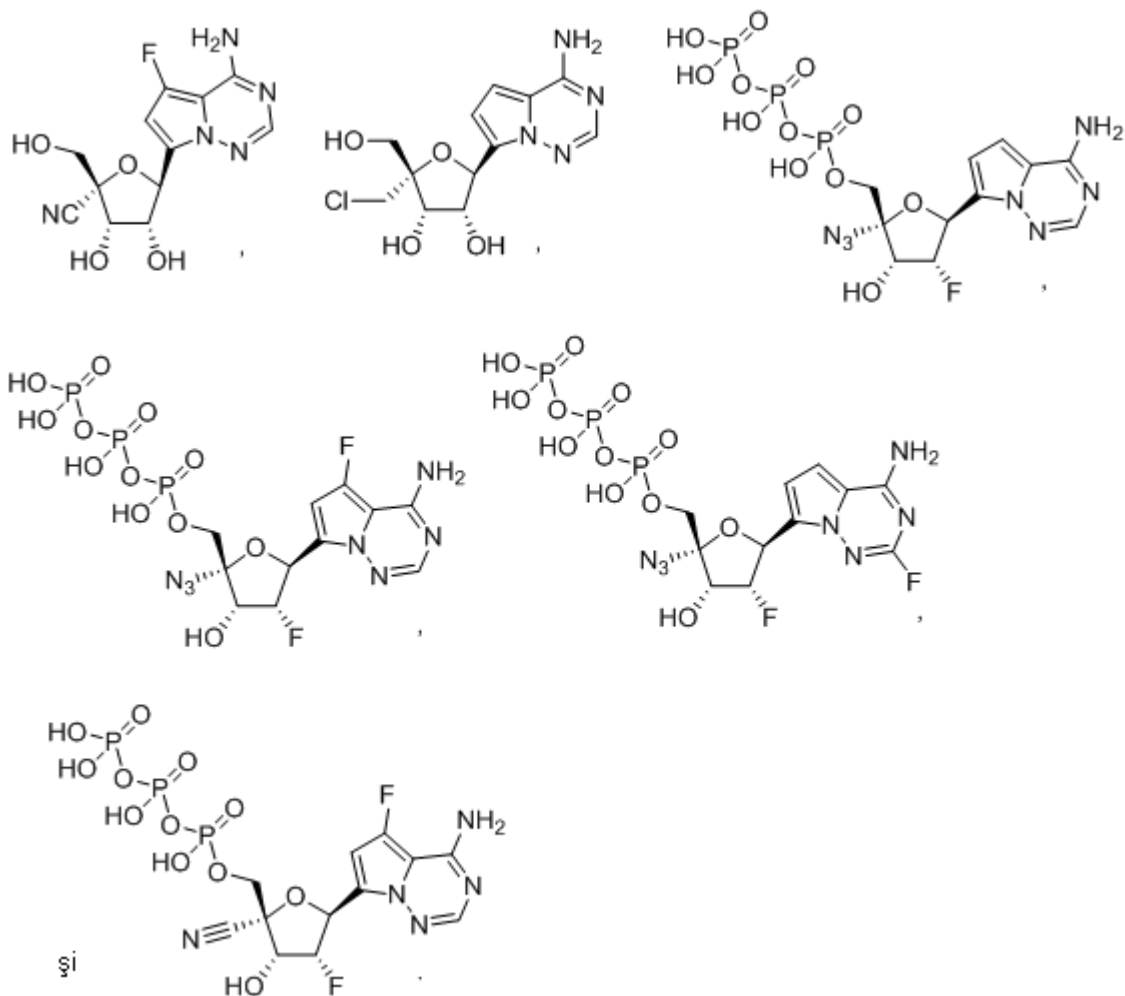
32. Compus, conform oricărei din revendicările 1-14, 18-21, 25-26 și 29 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, selectat din grupa constând din:



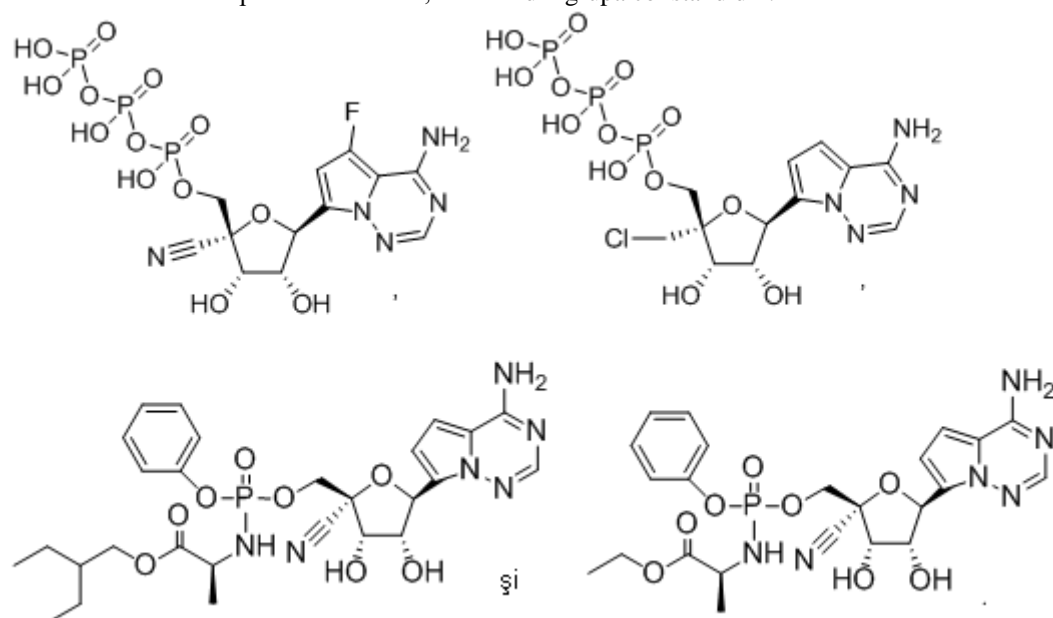
33. Compus, conform oricărei din revendicările 1-15, 18 și 25 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, selectat din grupa constând din:



34. Compus, conform oricărei din revendicările 1-13, 17-19, 24-26 și 29 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, selectat din grupa constând din:

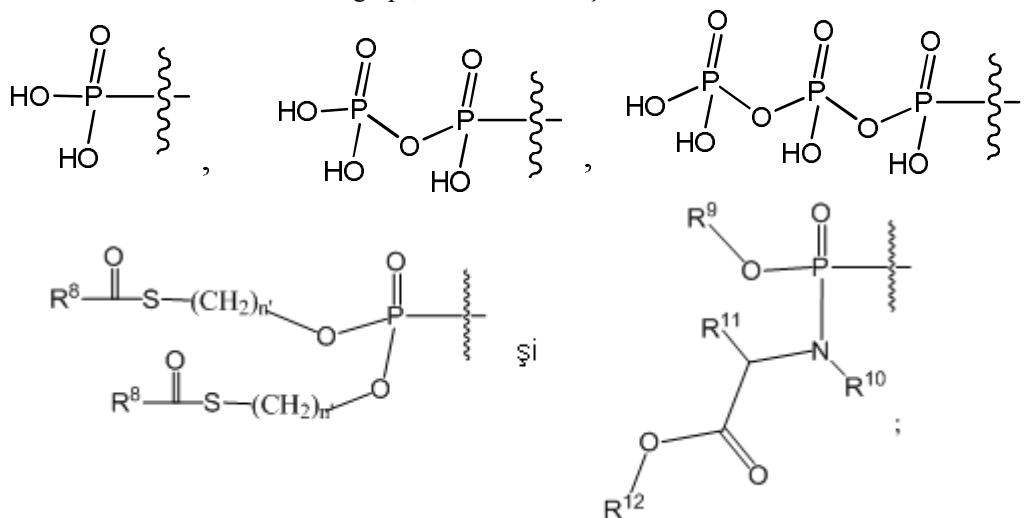


35. Compus, conform oricărei din revendicările 1-4, 6, 8-9, 11, 13, 17, 19-21, 24, 26 și 29 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, selectat din grupa constând din:



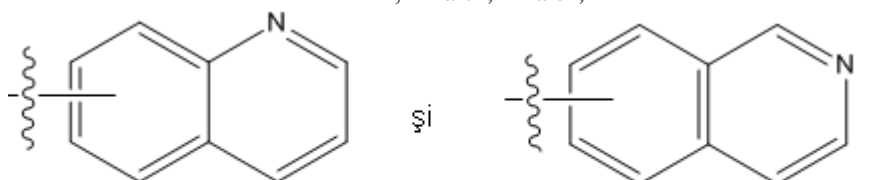
36. Compus, conform revendicării 1 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care:
 R^1 reprezintă H;

R² reprezintă H;
 R³ reprezintă OH;
 R⁴ reprezintă CN sau C₁-C₂ haloalchil;
 R⁶ reprezintă OH;
 R⁵ se selectează din grupa, care include H și:



in care:

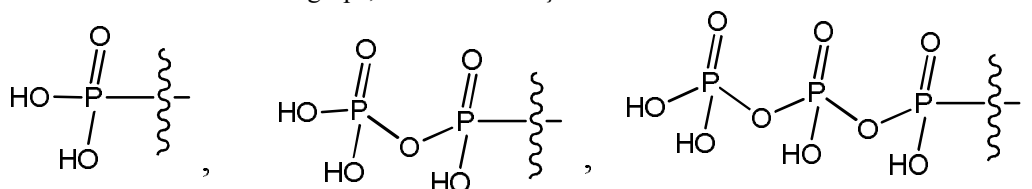
n' se selectează dintre 1, 2, 3 și 4;
 R⁸ se selectează dintre C₁-C₈ alchil, -O-C₁-C₈ alchil, benzil, -O-benzil, -CH₂-C₃-C₆ cicloalchil, -O-CH₂-C₃-C₆ cicloalchil și CF₃;
 R⁹ se selectează dintre fenil, 1-naftil, 2-naftil,

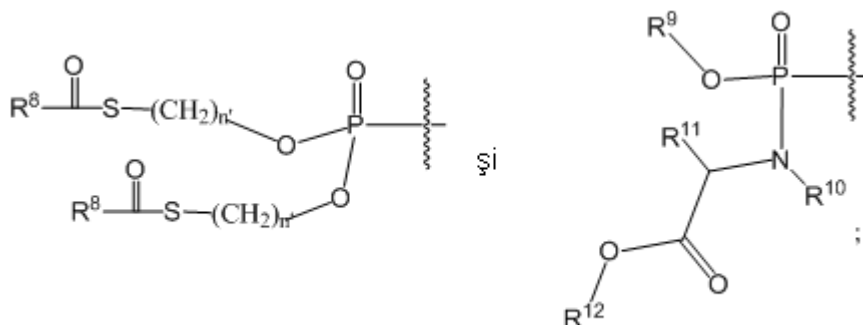


R¹⁰ se selectează dintre H și CH₃;
 R¹¹ se selectează dintre H sau C₁-C₆ alchil;
 R¹² se selectează dintre H, C₁-C₈ alchil, benzil, C₃-C₆ cicloalchil și -CH₂-C₃-C₆ cicloalchil.

37. Compus, conform revendicării 36 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care:

R³ reprezintă OH;
 R⁴ reprezintă CN sau C₁-C₂ haloalchil;
 R⁵ se selectează din grupa, care include H și:





in care:

n' se selectează dintre 1, 2, 3 și 4;

R^8 se selectează dintre C_1 - C_8 alchil, $-O$ - C_1 - C_8 alchil, benzil, $-O$ -benzil, $-CH_2$ - C_3 - C_6 cicloalchil, $-O$ - CH_2 - C_3 - C_6 cicloalchil și CF_3 ;

R^9 se selectează dintre fenil;

R^{10} se selectează dintre H și CH_3 ;

R^{11} se selectează dintre H sau C_1 - C_6 alchil;

R^{12} se selectează dintre H, C_1 - C_8 alchil, benzil, C_3 - C_6 cicloalchil și $-CH_2$ - C_3 - C_6 cicloalchil.

38. Compus, conform revendicărilor 36 și 37 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R^4 reprezintă CN, $-CH_2Cl$, $-CH_2F$, $-CHF_2$ sau $-CF_3$.

39. Compus, conform revendicărilor 36-38 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R^4 reprezintă CN, $-CH_2Cl$, sau $-CH_2F$.

40. Compus, conform revendicărilor 36-39 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R^4 reprezintă CN.

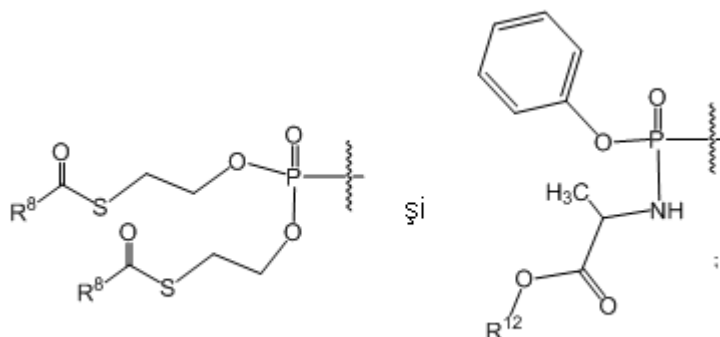
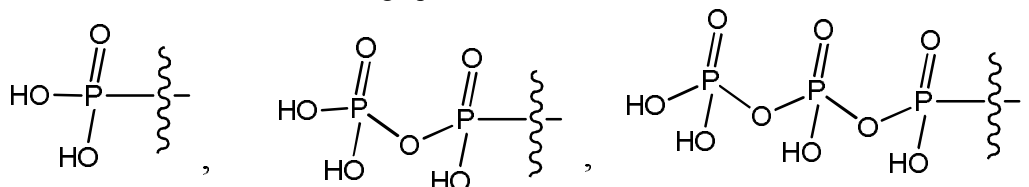
41. Compus, conform revendicărilor 36-37 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R^4 reprezintă C_1 - C_2 haloalchil.

42. Compus, conform revendicărilor 36-37 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R^4 reprezintă CN sau halometil.

43. Compus, conform revendicărilor 36-42 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R^5 reprezintă H.

44. Compus, conform revendicărilor 36-42 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care:

R^5 se selectează din grupa:

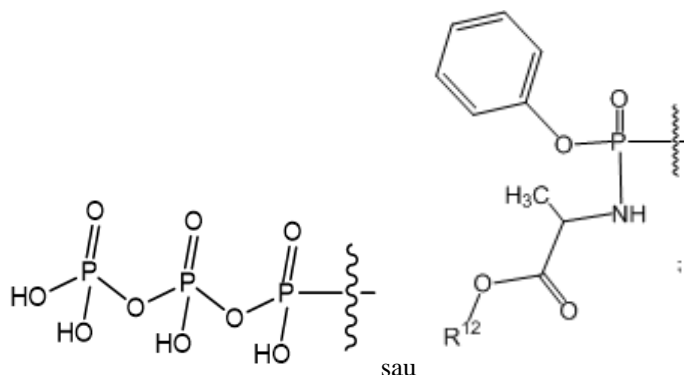


in care:

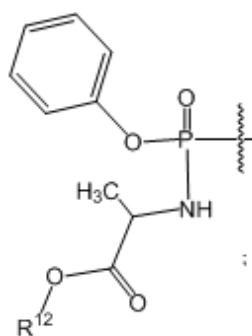
R^8 se selectează dintre C_1 - C_8 alchil, $-O$ - C_1 - C_8 alchil, benzil și $-CH_2$ - C_3 - C_6 cicloalchil;

R^{12} se selectează dintre C_1 - C_8 alchil, benzil, C_3 - C_6 cicloalchil și $-CH_2$ - C_3 - C_6 cicloalchil.

45. Compus, conform revendicării 44 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R⁵ reprezintă:



46. Compus, conform revendicării 44 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R⁵ reprezintă:



47. Compus, conform oricărei din revendicările 44-46 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia, în care R¹² reprezintă C₁-C₈ alchil.

48. Compoziție farmaceutică cu conținut de compus, conform oricărei din revendicările 1-47 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia și un purtător sau excipient farmaceutic acceptabilă.

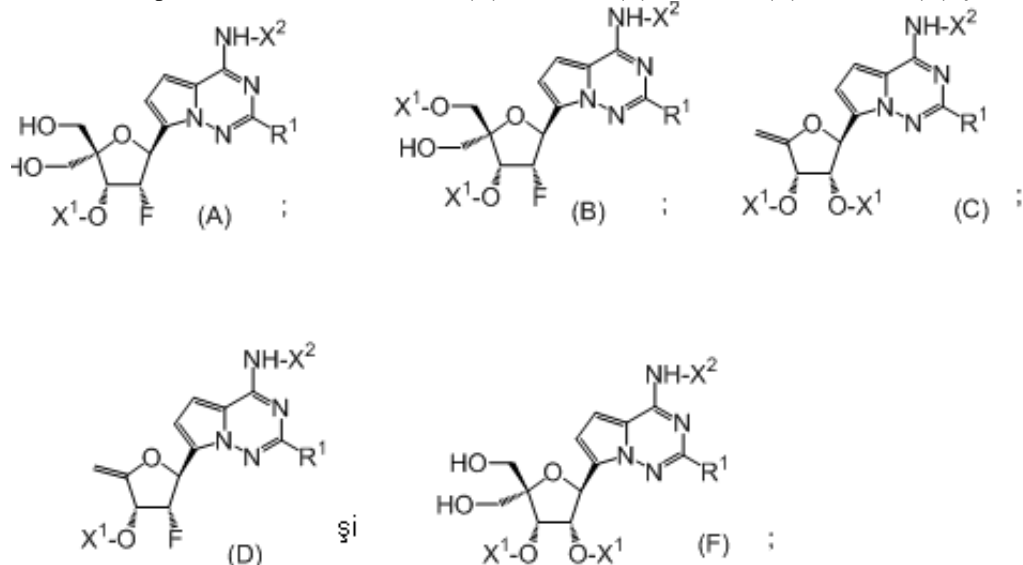
49. Metodă de obținere a unei compoziții farmaceutice, destinată tratării infecției cu virus *Pneumovirinae* sau cu virus sincitial respirator la om, unde se folosește un compus conform oricărei din revendicările 1-47 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia.

50. Compus, conform oricărei din revendicările 1-47 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia pentru utilizare în tratamentul infecției cu virus *Pneumovirinae* sau cu virus sincitial respirator la om.

51. Metodă de tratament al infecției cu virus *Pneumovirinae* la om, care prevede administrarea a unei cantități terapeutice eficiente de compus conform oricărei din revendicările 1-34 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia.

52. Metodă de tratament al infecției cu virus sincitial respirator la om, care prevede administrarea a unei cantități terapeutice eficiente de compus conform oricărei din revendicările 1-47 sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia.

53. Compus selectat dintre formula (A), formula (B), formula (C), formula (D) și formula (F):



in care X^1 reprezintă o grupă de protecție de oxigen, care reprezintă:

o grupă protectoare de eter silicic, selectată dintre trimetilsilil (TSM), trietilsilil (TES), timetilizopropilsilil (IPDSM), dietilizopropilsilil (DEIPS), dimetiltexilsilil (TDS), terț-butildimetilsilil (TBS sau TBDSM), terț-butildifenilsilil (TBDPS), tribenzilsilil, tri-*p*-xililxilil, triizopropilsilil (TIPS), difenilmetsilil (DPSM), di-terț-butilmetsilil (DTBSM), trifenilsilil (TPS), metildifenilsilil (MDPS), terț-butilmetoxifenilsilil, tris(trimetilsilil)silil (sisil), (2-hidroxistiril)dimetilsilil (HSDSM), (2-hidroxistiril)diizopropilsilil (HSDIS), terț-butilmetoxifenilsilil (TBMPS) și terț-butoxidifenilsilil (DPTBOS), sau

o grupă protectoare de tip benzil selectată dintre grupele protectoare benzil, benzil halogenat, *p*-metoxibenzil, benziloximetil, 2,4-dimetoxibenzil, 3,4-dimetoxibenzil, 2,6-dimetoxibenzil, *p*-CF₃-benzil, *p*-metilbenzil, *p*-metoxilbenzil, 3,5-dimetilbenzil, *p*-terț-butilbenzil, *o*-nitrobenzil, *p*-nitrobenzil, *p*-halobenxil, inclusiv *p*-Br-benzil, 2,6-diclorbenzil, *p*-cianbenzil, *p*-fenilbenzil, 2,6-difluorbenzil, *p*-acilaminobenxil (PAB), *p*-azidobenxil (Azb), 4-azido-3-clorbenzil, 2-trifluormetilbenzil, *p*-(metilsulfinil)benzil, 2-picolil, 4-picolil, 3-metil-2-picolil N-oxido, 2-chinolinilmetil, difenilmetil (DPM), *p,p'*-dinitrobenzidril, trifenilmetil, alfa-naftildifenilmetil, *p*-metoxifenildifenilmetil, di(*p*-metoxifenil)fenilmetil, tri(*p*-metoxifenil)metil, 4,4',4''-tris(benzoiloxifenil)metil și 2-naftilmetil;

ncipa² reprezintă o grupă protectoare de amină, selectată dintre *p*-metoxibenzil carbonil (Moz sau MeOZ), acetyl (Ac), benzoil (Bz), *p*-metoxibenzil (PMB), 3,4-dimetoxibenzil (DMPM), *p*-metoxifenil (PMP), tosil (Ts sau Tos), trifluoracetamidă și tritil; sau

o grupă protectoare de carbamat selectată dintre 9-fluorenilmetiloxycarbonil (Fmoc), 9-(2-sulfo)fluorenilmetil, 9-(2,7-dibrom)fluorenilmetil, 17-tetrabenzo[*a,c,g,i*]fluorenilmetil (Tbfmoc), 2-clor-3-indenilmetil (Climoc), benz[*f*]inden-3-ilmetil (Bimoc), 2,7-di-terț-butil[9-(10,10-dioxo-10,10,10-tetrahidrotioxanil)]metil (DBD-Tmoc), [2-(1,3-ditianil)metil (Dmoc) și 1,1-dioxobenzo[*b*]tiofene-2-ilmetil (Bsmoc), 1,1-dimetil-2-cianetil, 2-fosfonioetil (Peoc), 2-metiltioetil, 2-(*p*-toluensulfonil)etil, 2,2,2-tricloretil (Troc), 2-(trimetilsilil)etil (Teoc), 2-feniletil (hZ), 1-(1-adamantil)-1-metiletil (Adpoc), 1,1-dimetil-2-brometil, 1,1-dimetil-2-cloretel, 1,1-dimetil-2,2-dibrometil (DB-*t*-BOC), 1,1-dimetil-2,2,2-tricloretil (TCBOC), 1-metil-1-(4-bifenilil)etil (Bpoc), 1-(3,5-di-terț-butilfenil)-1-metiletel (terț-Bumeoc), 2-(2'piridil)etil, 2-(4'piridil)etil, 2,2-bis(4'-nitrofenil)etil (Bnpeoc), *N*-(2-pivaloilamino)-1,1-dimetiletel, 2-[(2-nitrofenil)ditio]-1-feniletel (NpSSPeoc), 2-(*N,N*-diciohexilcarboxamido)etil, terț-butil (Boc sau BOC), 1-adamantil (1-Adoc), 2-adamantil (2-Adoc), vinil (Voc), alilil (Aloc sau alloc), 1-izopropilalilil (Ipaoc), cinamil (Coc), 4-nitrocinaamil (Noc), 3-(3'-piridil)prop-2-enil (Paloc), 8-chinolil și *N*-hidroxipiperidinil, carbamați, precum și alchilditio carbamați, inclusiv metilditio, etilditio, izopropilditio, terț-butilditio și fenilditio, benzil, *p*-metoxibenzil, *p*-nitrobenzil, *p*-brombenzil, *p*-clorbenzil, 2,4-diclorbenzil, 4-metilsulfinilbenzil (SMz), 9-antrilmetil, 4-metiltiofenil (Mtpc), 1-metil-1-(trifenilfosfoniu)etil (2-trifenilfosfonioizopropil) (Ppoc), 2-dansiletel (Dnseoc), 2-(4-nitrofenil)etil (Npeoc), 4-fenilacetoxibenzil (PhAcOZ), 4-azidobenxil (ACBZ), 4-azidometoxibenzil, *m*-clor-*p*-aciloxibenzil, *p*-(dihidroxiboril)benzil, carbobenziloxi (Cbz), 4-benzizoxazolilmetil (Bic), 2-(trifluormetil)-6-cromonilmetil (Troc), fenil și difenilmetil carbamații. Carbamații adiționali includ:

butinil, ciclopentil, ciclohexil, ciclopropilmetil, 1-metilciclobutil, 1-metilciclohexil, 1,1-dimetilpropinil și 1-metil-1-ciclopropilmetil carbamații; sau

o grupă de protectoare de amidă pentru amine, selectată dintre *N*-formil, *N*-acetil, *N*-cloracetil, *N*-tricloracetil, *N*-trifluoracetil (TFA), *N*-fenilacetil, *N*-3-fenilpropionil, *N*-4-pentenoil, *N*-picolinoil, *N*-3-piridilcarboxamido, *N*-benzoilfenilalanil, *N*-benzoil și *N*-*p*-fenilbenzoil amide.

54. Compus, conform revendicării 53, selectat dintre:

