

DOMENIU

Cererea de brevet de invenție descrie derivați de chinazolină, procedee pentru prepararea lor, compoziții farmaceutice și utilizări medicale ale acestora, mai ales în domeniul terapiei. Mijloacele descrise în cererea de brevet sunt adecvate pentru modularea, în special pentru agonizarea, receptorilor de tip Toll (TLRs), în special TLR8. Mijloacele descrise în cerere sunt utile în special în tratamentul sau prevenirea bolilor sau stărilor, cum ar fi, infecțiile virale, tulburările imunitare sau inflamatorii.

DOMENIUL TEHNIC

Receptorii de tip Toll sunt proteine transmembranare primare caracterizate printr-un domeniu extracelular bogat în leucină și o extensie citoplasmatică care conține o regiune conservată. Sistemul imunitar înăscut poate recunoaște modelele moleculare asociate patogenului prin intermediul acestor TLRs exprimate pe suprafața celulară a anumitor tipuri de celule imune. Recunoașterea agenților patogeni străini activează producția de citokine și reglarea în sus a moleculelor co-stimulatoare pe fagocite. Aceasta duce la modularea comportamentului celulelor T.

S-a estimat că majoritatea speciilor de mamifere au între zece și cincisprezece tipuri de receptori de tip Toll. Treisprezece TLRs (denumite pur și simplu TLR1 la TLR13) au fost identificați la oameni și la șoareci împreună și forme echivalente ale multora dintre aceștia au fost găsiți la alte specii de mamifere. Cu toate acestea, echivalenții anumitor TLRs găsiți la om nu sunt prezente la toate mamiferele. De exemplu, o genă care codifică o proteină analoagă cu TLR10 la om este prezentă la șoareci, dar pare să fi fost deteriorată la un moment dat în trecut de un retrovirus. Pe de altă parte, șoarecii exprimă TLRs 11, 12 și 13, dintre care niciunul nu este reprezentat la om. Alte mamifere pot exprima TLRs care nu se găsesc la om. Alte specii non-mamifere pot avea TLRs distincte de mamifere, așa cum demonstrează TLR14, care se găsește la peștele-balon Takifugu. Acest lucru poate complica procesul de utilizare a animalelor experimentale ca modele de imunitate înăscută umană.

În tratamentul anumitor afecțiuni, poate fi avantajoasă inducerea IL-12 sau IFN γ , printre alte citokine, prin agonizarea receptorilor TLR 7/8 (Schurich ș.a., PLoS Pathology 2013, 9, e1003208 și Jo, J ș.a., PLoS Pathology 2014, 10, e1004210).

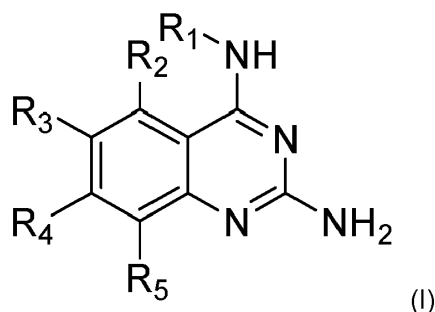
Pentru recenzii despre receptorii de tip toll, consultați următoarele articole de jurnal. Hoffmann, J.A., Nature, 426, p33-38, 2003; Akira, S., Takeda, K. și Kaisho, T.,

Annual Rev. Immunology, 21, p335-376, 2003; Ulevitch, R. J., Nature Reviews: Immunology, 4, p512-520, 2004. O'Neil ș.a., Nature Reviews Immunology 13, 453-460, 2013. Compușii care indică activitatea pe receptorii de tip Toll au fost descriși anterior în WO2006117670, WO98/01448, WO9928321, WO2009067081, WO2012136834, WO2012156498, WO2014076221 și WO2016141092, precum și în Pieters ș.a., Bioorg. Med. Chim. Lett, vol.28 nr.4 (2018), 711-71.

Există o mare nevoie de noi modulatori ai receptorului de tip Toll care să aibă selectivitate preferată și un profil de siguranță îmbunătățit în comparație cu compușii din stadiul tehnicii.

REZUMAT

Cererea de brevet de invenție furnizează un compus cu formula (I)



sau o sare acceptabilă farmaceutic, un solvat sau un polimorf al acestuia, în care

- R₁ este un C₄₋₈ alchil substituit cu un hidroxil,
 - carbonul lui R₁ legat de amină în poziția 4 a chinazolinei este în configurație (R),
 - R₂ este hidrogen, deuteriu, fluor, clor, metil, metoxi, ciclopropil, trifluormetil sau amidă carboxilică, în care fiecare dintre metil, metoxi și ciclopropil este opțional substituit cu unul sau mai mulți substituenți (mai particular un substituent) selectați independent dintre fluor și nitril,
 - R₃ este hidrogen sau deuteriu,
 - R₄ este hidrogen, deuteriu, fluor, metil, ester carboxilic, amidă carboxilică, nitril, ciclopropil, C₄₋₇heterociclu, sau grupare heteroaril cu 5 atomi, în care fiecare dintre metil, ciclopropil, C₄₋₇heterociclu și gruparea heteroaril cu 5 atomi este opțional substituită cu unul sau mai mulți substituenți (mai particular 1 sau 2 substituenți, mai ales 1 substituent) selectați independent dintre fluor, hidroxil și metil,
- și
- R₅ este hidrogen, deuteriu, fluor, clor, metil sau metoxi, cu condiția ca cel puțin unul dintre R₂, R₃, R₄ și R₅ să nu fie hidrogen.

Produsele cererii de brevet de invenție pot prezenta, în mod avantajos, un agonism (sau selectivitate) TLR8 îmbunătățit față de TLR7.

Cererea de brevet de invenție furnizează de asemenea mijloace, care cuprind sau conțin compusul cererii de brevet de invenție, cum ar fi, compozițiile farmaceutice, compozițiile imunologice și trusele.

Produsele și mijloacele cererii de brevet de invenție pot fi utile în activarea, sau stimularea TLR8.

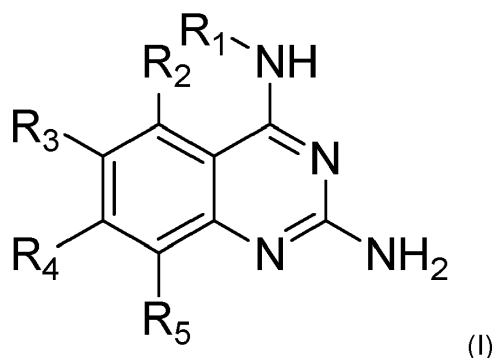
Produsele și mijloacele cererii de brevet de invenție pot fi utile în activarea, sau stimularea unui răspuns imun Th1 și/sau a producerii de citokine, cum ar fi, IL12.

Produsele și mijloacele cererii de brevet de invenție sunt utile în special în tratamentul, sau prevenirea infecției cu virus, sau a unei boli induse de virus, mai ales a unei infecții cu HBV, sau a unei boli induse de HBV, precum și în alte indicații, mai ales în cazul tratamentului sau prevenirea tumorilor maligne, cancerului sau alergiei.

DESCRIERE DETALIATA

Cererea de brevet de invenție descrie subiectul descris mai jos, subiectul ilustrat mai jos, precum și subiectul definit în revendicările depuse, care sunt încorporate aici ca referință.

Cererea de brevet de invenție furnizează un compus cu formula (I)



sau o sare acceptabilă farmaceutic, un solvat sau un polimorf al acestuia, în care

- R₁ este un C₄₋₈ alchil substituit cu un hidroxil,
- carbonul lui R₁ legat de amină în poziția 4 a chinazolinei este în configurație (R),
- R₂ este hidrogen, deuteriu, fluor, clor, metil, metoxi, ciclopropil, trifluormetil sau amidă carboxilică în care fiecare dintre metil, metoxi și ciclopropil este opțional substituit cu unul sau mai mulți substituenți (mai particular un substituent) ales independent dintre fluor sau nitril,
- R₃ este hidrogen sau deuteriu,

- R₄ este hidrogen, deuteriu, fluor, metil, ester carboxilic, amidă carboxilică, nitril, ciclopropil, C₄₋₇heterociclu sau grupare heteroaril cu 5 atomi, în care fiecare dintre metil, ciclopropil, C₄₋₇heterociclu și gruparea heteroaril cu 5 atomi este opțional substituită cu unul sau mai mulți substituenți (mai particular 1 sau 2 substituenți, mai ales 1 substituent) selectați independent dintre fluor, hidroxil sau metil și
- R₅ este hidrogen, deuteriu, fluor, clor, metil sau metoxi, cu condiția ca cel puțin unul dintre R₂, R₃, R₄ și R₅ să nu fie hidrogen (adică R₂, R₃, R₄ și R₅ nu pot fi toți H în același timp).

R₄ poate fi de configurație (R) sau (S).

Produsele cererii de brevet de invenție pot prezenta în mod avantajos un agonism (sau selectivitate) TLR8 îmbunătățit față de TLR7.

Agoniștii TLR 7/8 sunt, de asemenea, de interes ca adjuvanți de vaccin datorită capacității lor de a induce un răspuns Th1. Agoniștii TLR8 sunt de interes deosebit pentru a afecta inducerea IL12, precum și a altor citokine.

În general, poate fi avantajos ca compușii cu formula (I) să aibă o stabilitate metabolică scăzută, sau să fie în alt mod îndepărtați rapid limitând astfel concentrația în circulația sistemică și suprastimularea imună care poate duce la efecte nedorite.

Cu excepția cazului în care se specifică altfel sau dacă contextul dictează altfel, toți termenii au sensul lor obișnuit în domeniile relevante.

Termenul "alchil" se referă la o hidrocarbură alifatică saturată cu catenă liniară sau ramificată care conține numărul specificat de atomi de carbon.

Termenul "alcoxi" se referă la o grupare alchil (catenă de carbon și hidrogen) legată singular la oxigen, cum ar fi, de exemplu, o grupare metoxi sau o grupare etoxi.

Termenul "aril" înseamnă o structură ciclică aromatică care cuprinde opțional unul sau doi heteroatomi selectați dintre N, O și S, în special dintre N și O. Structura ciclică aromatică menționată poate avea 5, 6 sau 7 atomi în ciclu. În particular, respectiva structură a ciclului aromatic poate avea 5 sau 6 atomi în ciclu.

Heterociclu se referă la molecule care sunt saturate sau parțial saturate și includ tetrahidrofuran, oxetan, dioxan sau alți eteri ciclici. Heterociclurile care conțin azot includ, de exemplu, azetidină, morfolină, piperidină, piperazină, pirolidină, etc. Alți heterocicli includ, de exemplu, tiomorfolină, dioxolinil și sulfone ciclice.

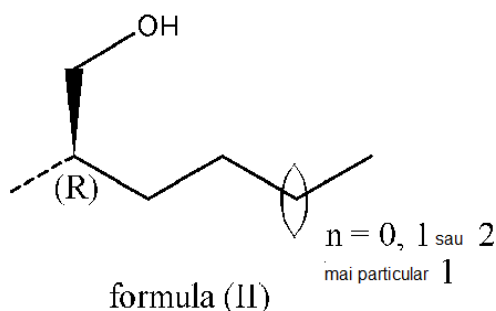
Grupările heteroaril sunt grupări heterociclice care sunt de natură aromatică. Acestea sunt monociclice, biciclice sau policiclice care conțin unul sau mai mulți heteroatomi selectați dintre N, O sau S. Grupările heteroaril pot fi, de exemplu,

imidazolil, izoxazolil, oxadiazolil, oxazolil, pirolil, piridonil, piridil, piridazinil, pirazinil. Sărurile acceptabile farmaceutic ale compușilor cu formula (I) includ sărurile de adiție acidă și bazică ale acestora. Sărurile de adiție acidă adecvate sunt formate din acizi care formează săruri netoxice. Sărurile bazice adecvate sunt formate din baze care formează săruri netoxice.

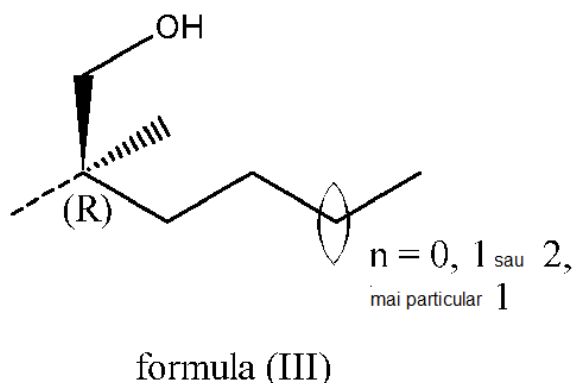
Compușii din cererea de brevet de invenție pot exista, de asemenea, sub forme nesolvatate și solvatate. Termenul "solvat" este utilizat aici pentru a descrie un complex molecular care cuprinde compusul din cererea de brevet de invenție și una sau mai multe molecule de solvent acceptabile farmaceutic, de exemplu, etanol.

Termenul "polimorf" se referă la capacitatea compusului din cererea de brevet de invenție de a exista în mai multe forme sau structuri cristaline.

Cererea de brevet de invenție furnizează compuși cu formula (I) în care R_1 este un C_{4-8} alchil substituit cu un hidroxil și în care R_2 , R_3 , R_4 și R_5 sunt cei specificați mai sus. În exemplele de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compușii cu formula (I) în care R_1 are formula (II):



sau cu formula (III):



și în care R_2 , R_3 , R_4 și R_5 sunt cei specificați mai sus.

În exemplele de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compuși cu formula (I) în care R_2 este fluor, clor sau metil și în care metil este opțional substituit

cu unul sau mai mulți substituenți selectați independent dintre fluor și nitril și în care R₁, R₃, R₄ și R₅ sunt cei descriși mai sus.

În exemplele de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compuși cu formula (I) în care R₂ este fluor, clor sau metil și în care metilul este opțional substituit cu unul sau mai mulți substituenți selectați independent dintre fluor și nitril și în care R₁ are formula (II), (III), (IV) sau (V), mai particular formula (II) sau (III), mai particular formula (II) și în care R₃, R₄ și R₅ sunt cei descriși mai sus.

În exemplele de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compuși cu formula (I) în care R₂ este fluor sau clor, în special fluor și în care R₁, R₃, R₄ și R₅ sunt cei descriși mai sus.

În exemplele de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compuși cu formula (I) în care R₂ este fluor sau clor, în special fluor, în care R₁ are formula (II), (III), (IV) sau (V), mai particular formula (II) sau (III), mai particular formula (II) și în care R₃, R₄ și R₅ sunt cei descriși mai sus.

În exemplele de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compuși cu formula (I) în care R₅ este fluor sau clor, în special fluor și în care R₁, R₂, R₃ și R₄ sunt cei descriși mai sus.

În exemplele de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compuși cu formula (I) în care R₅ este fluor sau clor, în special fluor, în care R₁ are formula (II), (III), (IV) sau (V), mai particular formula (II) sau (III), mai particular formula (II) și în care R₂, R₃ și R₄ sunt cei specificați mai sus.

În exemplele de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compuși cu formula (I) în care R₄ este fluor sau metil, în special fluor și în care metilul este opțional substituit cu unul sau mai mulți substituenți selectați independent dintre fluor, hidroxil sau metil și în care R₁, R₂, R₃ și R₅ sunt cei descriși mai sus.

În exemplele de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compuși cu formula (I) în care R₄ este fluor sau metil, în special fluor și în care metilul este opțional substituit cu unul sau mai mulți substituenți selectați independent dintre fluor, hidroxil sau metil și în care formula (II), (III), (IV) sau (V), mai particular formula (II) sau (III), mai particular formula (II) și în care R₂, R₃ și R₅ sunt cei specificați mai sus.

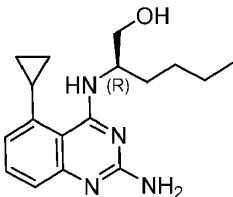
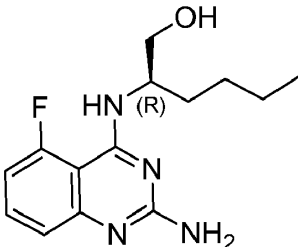
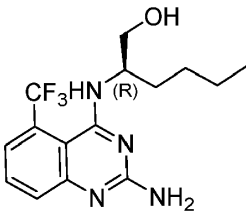
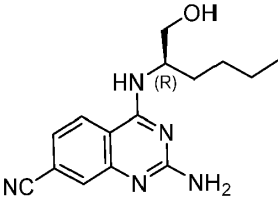
În exemplele de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compuși cu formula (I) în care R₄ este fluor sau clor, în special fluor și în care R₁, R₂, R₃ și R₅ sunt cei descriși mai sus.

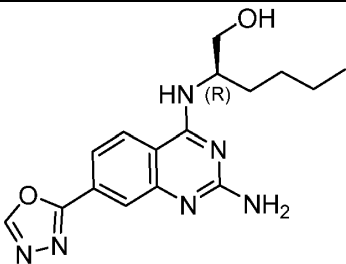
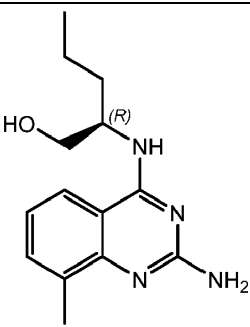
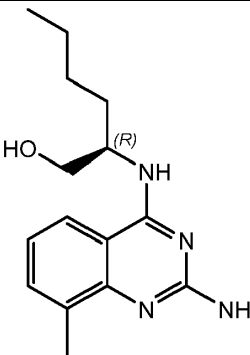
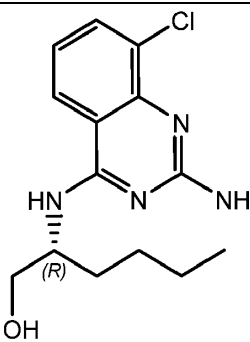
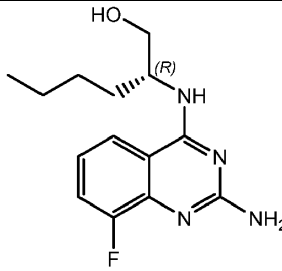
În exemplele de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compuși cu formula (I) în care R_4 este fluor sau clor, în special fluor, în care R_1 are formula (II), (III), (IV) sau (V), mai ales formula (II) sau (III), mai particular formula (II) și în care R_2 , R_3 și R_5 sunt cei specificați mai sus.

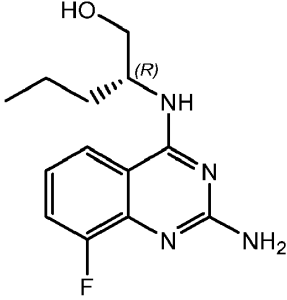
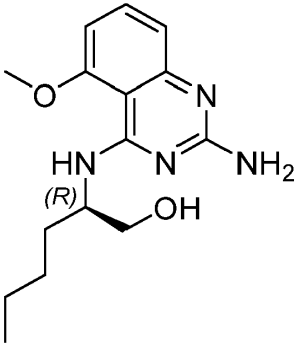
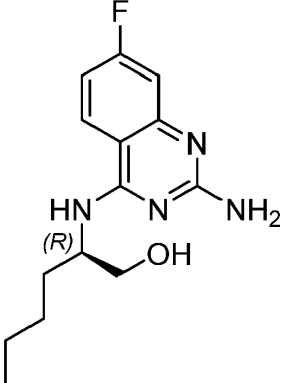
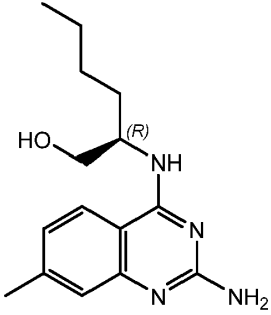
În exemplele de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compuși cu formula (I) în care R_2 este fluor, clor, metil, în special fluor, în care R_4 este fluor sau clor, în special fluor, în care formula (II), (III), (IV) sau (V), mai particular formula (II) sau (III), mai particular formula (II) și în care R_3 și R_5 sunt cei specificați mai sus.

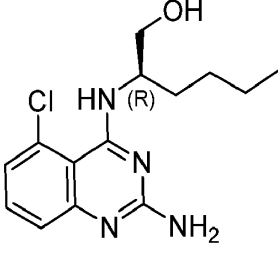
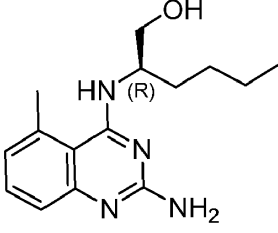
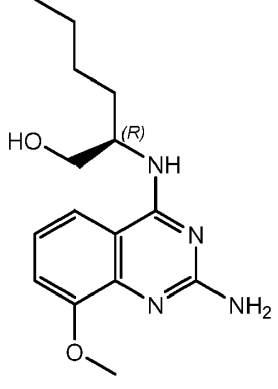
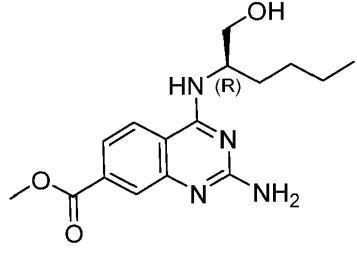
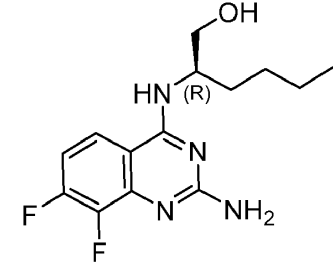
În exemplele de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compusul numărul 1 până la compusul numărul 10, compusul numărul 12 până la compusul numărul 19 și compusul numărul 21 până la compusul numărul 32 (compușii 1-10, 12-19 și 21-32) așa cum s-a descris în Tabelul 5 de mai jos.

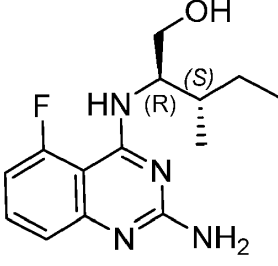
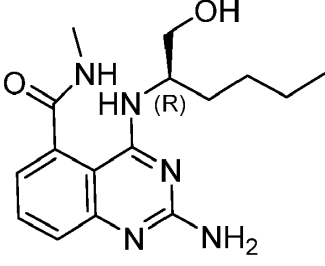
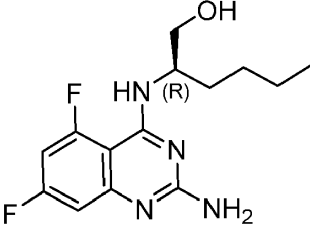
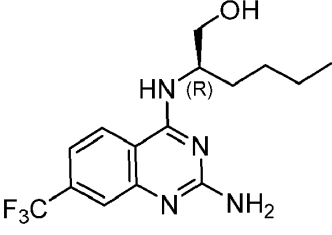
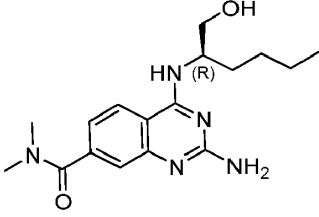
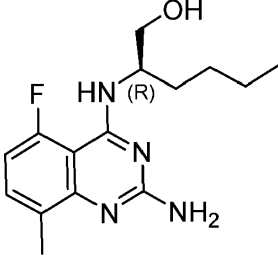
Tabelul 5:

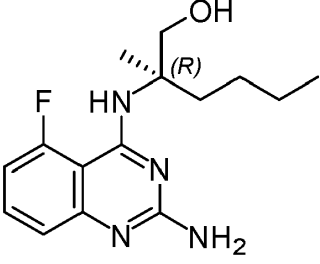
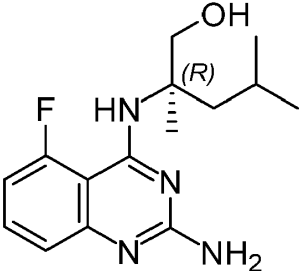
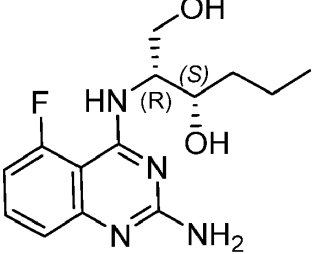
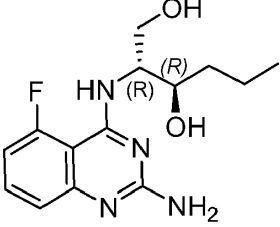
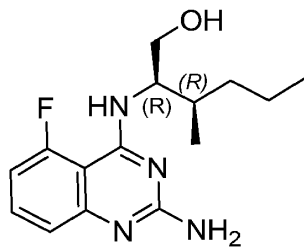
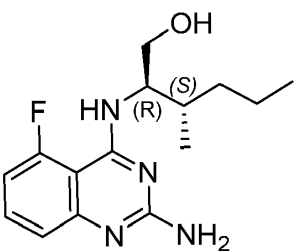
Număr compus	
1	
2	
3	
4	

Număr compus	
5	
6	
7	
8	
9	

Număr compus	
10	
12	
13	
14	

Număr compus	
15	
16	
17	
18	
19	

Număr compus	
21	
22	
23	
24	
25	
26	

Număr compus	
27	
28	
29	
30	
31	
32	

În exemplele de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compușii 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 21, 22, 23, 24 și 26 (așa cum este descris, de ex., în Tabelul 5).

În exemplele de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compușii 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 21, 23, 24 și 26 (așa cum este descris, de ex., în Tabelul 5).

În exemplele de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compușii 2, 13, 14, 15, 16, 21 și 23 (așa cum este descris, de ex., în Tabelul 5).

În exemplele de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compușii 2, 13, 15, 21 și 23 (așa cum este descris, de ex., în Tabelul 5).

Într-un exemplu de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compusul 2 (așa cum este descris, de ex., în Tabelul 5).

Într-un exemplu de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compusul 13 (așa cum este descris, de ex., în Tabelul 5).

Într-un exemplu de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compusul 15 (așa cum este descris, de ex., în Tabelul 5).

Într-un exemplu de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compusul 16 (așa cum este descris, de ex., în Tabelul 5).

Într-un exemplu de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compusul 21 (așa cum este descris, de ex., în Tabelul 5).

Într-un exemplu de realizare, cererea de brevet de invenție furnizează compusul 23 (așa cum este descris, de ex., în Tabelul 5).

Compușii din cererea de brevet de invenție și sarea lor, solvatul sau polimorful lor acceptabil farmaceutic au activitate ca produse farmaceutice, în special ca modulatori ai activității TLR7 și/sau TLR8, mai particular ai activității TLR8.

Termenul "modulator" include atât inhibitor, cât și activator, unde inhibitorul se referă la compuși care scad sau inactivează activitatea receptorului și unde activator se referă la compuși care cresc sau activează activitatea receptorului. Mai particular, compușii din cererea de brevet de invenție și sarea lor, solvatul sau polimorful lor acceptabil farmaceutic pot avea activitate ca agoniști ai activității TLR7 și/sau TLR8, mai particular ai activității TLR8.

Produsele aplicației pot prezenta în mod avantajos un agonism (sau selectivitate) TLR8 îmbunătățit față de TLR7. Alternativ sau complementar, produsele

aplicației pot prezenta în mod avantajos un agonism TLR8 îmbunătățit în comparație cu compușii descriși în WO2012156498.

Mijloacele pentru determinarea activității TLR7 și/sau a activității TLR8, în special activitatea TLR8, sunt cunoscute persoanei de specialitate în domeniu. Mijloacele pentru determinarea activității TLR7 și/sau a activității TLR8, în special a activității TLR8, pot cuprinde celule care au fost modificate genetic pentru a exprima TLR7 sau TLR8, cum ar fi, linia celulară NF- κ B reporter (luc)-HEK293.

Activitatea TLR7 sau TLR8 poate fi exprimată ca cea mai mică valoare a concentrației efective (LEC), adică concentrația care induce un efect care este de cel puțin două ori peste deviația standard a testului.

Produsele aplicației pot stimula sau activa în mod avantajos producția (sau secreția) de citokine, în special producția de IL12 (la un mamifer).

Cererea de brevet de invenție furnizează o compoziție farmaceutică, sau o compoziție imunologică, sau un vaccin, care cuprinde un compus al cererii sau o sare, un solvat sau un polimorf acceptabil farmaceutic al acestuia, împreună cu unul sau mai mulți excipienți, diluanți sau purtători acceptabili farmaceutici.

Un compus din cererea de brevet de invenție sau o sare, un solvat sau un polimorf acceptabil farmaceutic al acestuia, sau o compoziție farmaceutică a cererii de brevet de invenție, poate fi utilizat ca medicament.

Un compus din cererea de brevet de invenție sau o sare, un solvat sau un polimorf acceptabil farmaceutic al acestuia, sau o compoziție farmaceutică a cererii de brevet de invenție, poate fi utilizat ca adjuvant de vaccin sau ca un imunomodulator, în special pentru a activa sau stimula un răspuns Th1 și/sau pentru a stimula sau a activa producerea uneia sau mai multor citokine, în special IL12.

Un compus al cererii de brevet de invenție sau o sare, un solvat sau un polimorf acceptabil farmaceutic al acestuia, sau o compoziție farmaceutică a cererii, poate fi utilizat în tratamentul sau prevenirea unei boli sau tulburări în care este implicată modularea TLR7 și/sau TLR8, în special TLR8.

Astfel de boli sau afecțiuni pot include în special infecții virale, boli induse de virusuri, cancer și alergii (induse viral sau induse non-viral), în special infecții virale, boli induse de virus (induse viral sau induse non-viral) și cancer, mult mai particular infecție virală și bolile induse de virus.

Astfel de boli sau stări pot cuprinde în mod special infecția virală, în special infecția virală cronică, precum și tumori (induse viral sau induse non-viral), mai ales tumori maligne sau cancer.

Astfel de boli sau stări cuprind mai particular infecția virală, mai particular infecția cu HBV, mai particular infecția cronică cu HBV.

Astfel de boli sau stări cuprind mai în special boli (sau tulburări) induse viral, mai ales boli (sau tulburări) induse de HBV.

Asemenea boli sau stări cuprind mai particular una sau mai multe boli (sau tulburări) alese dintre fibroza hepatică, inflamația hepatică, necroza hepatică, ciroza, boala hepatică și carcinomul hepatocelular.

Astfel de boli sau stări cuprind mai particular tumori (induse viral sau induse non-viral), mai ales tumori maligne sau cancer.

Astfel de boli sau afecțiuni cuprind mai ales alergii.

Termenul "mamifer" cuprinde atât mamiferele non-umane, cât și umane. Mamiferele non-umane cuprind în special mamifere ovine, bovine, porcine, canine, feline, rozătoare și murine, precum și primat non-umane. Termenul "uman(i)" cuprinde mai în special oameni care sunt infectați cu HBV, în special care au o infecție cronică cu HBV.

Termenul "tratament" nu se limitează la semnificația tratamentului curativ, ci include orice tratament pe care o persoană de specialitate în domeniu sau un medic calificat l-ar privi ca terapie sau ca parte a unei terapii. Termenul "tratament" poate include astfel tratament de ameliorare, tratamente paliative, tratament de remisie.

Produsele cererii de brevet de invenție pot prezenta în mod avantajos clearance-ul îmbunătățit (din circulația sistemică a mamiferelor), în special în comparație cu agoniștii TLR7 și/sau TLR8 din stadiul tehnicii.

Compușii cererii de brevet de invenție pot fi administrați ca produși cristalini sau amorfii. Ei pot fi obținuți, de exemplu, ca prize solide, pulberi sau filme prin metode precum precipitarea, cristalizarea, uscarea prin liofilizare, uscarea prin pulverizare, sau uscarea prin evaporare. Aceștia pot fi administrați singuri sau în combinație cu unul sau mai mulți alți compuși ai cererii de brevet de invenție sau în combinație cu unul sau mai multe alte medicamente. În general, ei vor fi administrați ca o formulare în asociere cu unul sau mai mulți excipienți acceptabili farmaceutic.

Termenul "excipient" este utilizat aici pentru a descrie orice ingredient, altul decât compusul(ii) cererii de brevet de invenție. Alegerea excipientului depinde în mare

măsură de factori, cum ar fi, modul de administrare, efectul excipientului asupra solubilității și stabilității și natura formei de dozare.

Compușii cererii de brevet de invenție sau orice subgrup al acestora pot fi formulați în diferite forme farmaceutice în scopuri de administrare. Ca compoziții adecvate, pot fi citate toate compozițiile utilizate de obicei pentru administrarea sistemică a medicamentelor. Pentru a prepara compozițiile farmaceutice din cerere, o cantitate eficientă de compus, opțional sub formă de sare, ca ingredient activ, este combinată în amestec intim cu un purtător acceptabil farmaceutic, purtător care poate lua o mare varietate de forme în funcție de forma de pregătire dorită pentru administrare. Aceste compoziții farmaceutice sunt de dorit în formă de dozare unitară adecvată, de exemplu, pentru administrare orală, rectală sau percutanată. De exemplu, la prepararea compozițiilor sub formă de dozare orală, poate fi folosit oricare dintre mediile farmaceutice uzuale, cum ar fi, de exemplu, apă, glicoli, uleiuri, alcooli, etc., în cazul preparatelor lichide orale, cum ar fi, suspensii, siropuri, elixiruri, emulsii și soluții; sau purtători solizi, cum ar fi, amidon, zaharuri, caolin, diluanți, lubrifianți, lianți, agenți de dezintegrare, etc., în cazul pulberilor, pilulelor, capsulelor și tabletelor. Datorită ușurinței lor în administrare, tabletele și capsulele reprezintă cele mai avantajoase forme de unitate de dozare orală, caz în care sunt utilizați în mod evident purtători farmaceutici solizi. Sunt incluse și preparatele sub formă solidă care pot fi transformate, cu puțin timp înainte de utilizare, în forme lichide. Într-o compoziție adecvată pentru administrare percutanată, purtătorul cuprinde opțional un agent de intensificare a penetrării și/sau un agent de umectare adecvat, opțional combinat cu aditivi adecvați de orice natură în proporții minore, aditivi care nu introduc un efect dăunător semnificativ asupra pielii. Aditivii menționați pot facilita administrarea pe piele și/sau pot fi de ajutor pentru prepararea compozițiilor dorite. Aceste compoziții pot fi administrate în diferite moduri, de ex., ca platură transdermic, ca spot-on, ca un unguent. Compușii cererii de brevet de invenție pot fi, de asemenea, administrați prin inhalare sau insuflare prin intermediul metodelor și formulărilor utilizate în domeniu pentru administrare prin acest mod. Astfel, în general, compușii cererii de brevet de invenție pot fi administrați în plămâni sub formă de soluție, suspensie sau pulbere uscată.

Este deosebit de avantajos să se formuleze compozițiile farmaceutice menționate mai sus în formă de dozare unitară pentru ușurința administrării și uniformitatea dozării. Forma de dozare unitară, așa cum este utilizată aici, se referă la

unități discrete fizic adecvate ca doze unitare, fiecare unitate conținând o cantitate predeterminată de ingredient activ calculată pentru a produce efectul terapeutic dorit în asociere cu purtătorul farmaceutic necesar. Exemple de astfel de forme de dozare unitară sunt tablete (inclusiv tablete marcate sau acoperite), capsule, pilule, pachete de pulbere, plachete, supozitoare, soluții sau suspensii injectabile, etc., și mulți separați ai acestora.

Persoanele de specialitate în domeniu în tratamentul bolilor infecțioase vor putea determina cantitatea eficientă pentru administrare la un individ care are nevoie de aceasta. În general, se are în vedere că o cantitate zilnică eficientă ar fi de la 0,01 mg/kg până la 200 mg/kg corp. Poate fi adecvat să se administreze doza necesară ca două, trei, patru sau mai multe subdoze la intervale adecvate pe parcursul zilei. Subdozele menționate pot fi formulate ca forme de dozare unitară, de exemplu, conținând 0,1 până la 1000 mg, și în special, 1 până la 200 mg de ingredient activ pe formă de dozare unitară. Poate fi, de asemenea, adecvat să se administreze doza necesară pe o bază mai puțin frecventă, de exemplu, o dată sau de două ori pe săptămână, sau rar lunar.

O cantitate eficientă poate fi cantitatea care este suficientă pentru a stimula sau activa (activitatea) receptorului TLR8 sau a receptorilor TLR8 și TLR7.

O cantitate eficientă poate fi cantitatea care este suficientă pentru a stimula sau activa producția (sau secreția) de citokine, în special IL12.

Doza exactă și frecvența administrării depind de compusul utilizat, de afecțiunea particulară care este tratată, de severitatea afecțiunii de tratată, de vârstă, greutatea și starea fizică generală a pacientului în particular, precum și de alte medicamente pe care persoana le poate lua, după cum este bine cunoscut specialiștilor în domeniu.

Mai mult, este evident faptul că cantitatea eficientă poate fi scăzută sau mărită în funcție de răspunsul subiectului tratat și/sau în funcție de evaluarea medicului care prescrie compuşii cererii de brevet de invenție. Intervalele de cantități efective menționate mai sus sunt, prin urmare, doar linii directoare și nu au scopul de a limita domeniul de aplicare sau utilizarea cererii de brevet de invenție în nicio măsură.

Cererea de brevet de invenție furnizează, de asemenea, un produs sau o trusă, care cuprinde un prim compus și un al doilea compus ca preparat combinat pentru utilizare simultană, separată sau secvențială în prevenirea sau tratamentul unei infecții

cu HBV, sau a unei boli induse de HBV la mamiferele care au nevoie de aceasta, în care primul compus menționat este diferit de cel de-al doilea compus menționat.

Primul compus menționat este compusul din cererea de brevet de invenție sau compoziția farmaceutică a cererii de brevet de invenție, iar al doilea compus menționat este un inhibitor al HBV. Al doilea compus menționat poate, de exemplu, un inhibitor al HBV care este ales dintre:

- citokine care au activitate de inhibare a replicării HBV, cum ar fi, interferonul, în special interferonul-alfa,
- sulfonamide substituite care au activitate de inhibare a asamblării capsidelor HBV și/sau au activitate de inhibare a HBsAg, cum ar fi, compușii descriși în WO 2014033170, WO2014184350, sau alte combinații (*de ex.*, WO2017181141), sau acizi carboxilici așa cum este descris în WO2017140750,
- analogi nucleozidici antiretrovirali, în special inhibitori de revers transcriptază, sau inhibitori de polimerază, cum ar fi, lamivudina (sau 3TC, Număr de înregistrare CAS 134678-17-4), adefovir dipivoxil, tenofovir dizoproxil fumarat,
- vaccin antivirus sau compoziții imunologice, în special vaccin anti-HBV sau compoziții imunologice, și
- combinațiile acestora.

Mai particular, al doilea compus menționat poate fi, de ex., un inhibitor HBV care este ales dintre:

- sulfonamide substituite care au activitate de inhibare a asamblării capsidelor HBV și/sau au activitate de inhibare a HBsAg, cum ar fi, compușii descriși în WO 2014033170, WO2014184350, sau alte combinații (*de ex.*, WO2017181141), sau acizi carboxilici așa cum este descris în WO2017140750,
- lamivudină (sau 3TC, Număr de înregistrare CAS 134678-17-4), adefovir dipivoxil, tenofovir dizoproxil fumarat),
- vaccinuri antivirale și compoziții imunologice antivirale, în special vaccinuri anti-HBV și compoziții imunologice anti-HBV și
- combinațiile acestora.

Cererea de brevet de invenție furnizează, de asemenea, promedicamente acceptabile farmaceutic ale compușilor din cererea de brevet de invenție și utilizarea lor în terapie (promedicamentele și utilizările lor nu fac parte din invenția revendicată) mai particular în tratamentul sau prevenirea infecției cu HBV, în special a infecției cronice cu HBV. Termenul "promedicament" este în general intenționat ca un

precursor al unui compus desemnat care, după administrarea la un subiect, produce compusul in vivo printr-un proces chimic sau fiziologic, cum ar fi, solvoliza sau scindarea enzimatică, sau în condiții fiziologice (de ex., un promedicament care este adus la pH-ul fiziologic se transformă în compusul cererii de brevet de invenție). Un promedicament acceptabil farmaceutic poate fi, mai particular, un promedicament care este netoxic, tolerabil din punct de vedere biologic și, altfel, adecvat din punct de vedere biologic pentru administrare la subiect.

Cererea de brevet de invenție furnizează, de asemenea, metaboliți acceptabili farmaceutic ai compuşilor din cererea de brevet de invenție și utilizarea lor în terapie (metaboliții și utilizările lor nu fac parte din invenția revendicată), mai particular în tratamentul sau prevenirea unei boli sau tulburări în care este implicată modularea TLR7. și/sau TLR8, mai particular TLR8, mai particular în infecția cu HBV, mai particular în infecția cronică cu HBV, sau în tratamentul cancerului.

Un metabolit activ farmaceutic înseamnă, în general, un produs activ din punct de vedere farmacologic al metabolismului în organism al unui compus al cererii de brevet de invenție sau al unei sării a acestuia. Promedicamentele și metaboliții activi ai unui compus pot fi determinați utilizând tehnici de rutină cunoscute sau disponibile în domeniu.

Termenul "care cuprinde", care este sinonim cu "care include" sau "care conține", este deschis și nu exclude element(e), ingredient(e) sau etapă(e) de metodă suplimentare, nementionate, în timp ce termenul "care constă din" este un termen închis, care exclude orice element, etapă sau ingredient suplimentar care nu este menționat în mod explicit.

Termenul "care constă în esență din" este un termen parțial deschis, care nu exclude elemente, etape sau ingrediente suplimentare, nementionate, atât timp cât aceste elemente suplimentare, etapa(etapele) sau ingredientul(ele) nu afectează în mod semnificativ proprietățile de bază și noi ale cererii de brevet de invenție.

Termenul "care cuprinde" (sau "cuprind(e)") include, prin urmare, termenul "care constă din" ("constă(constau) din"), precum și termenul "care constă în esență din" ("constă(constau) în esență din"). În consecință, termenul "care cuprinde" (sau "cuprind(e) ") este, în cererea de brevet de invenție, înțeles ca cuprinzând mai particular termenul "care constă din" ("constă(constau) din") și termenul "care constă în esență din" ("constă(constau) în esență din"). În încercarea de a ajuta cititorul, descrierea a fost separată în diferite paragrafe sau secțiuni. Aceste separări nu ar

trebui considerate ca deconectând substanța unui paragraf sau secțiune de substanța altui paragraf sau secțiune. Dimpotrivă, descrierea cuprinde toate combinațiile diferitelor secțiuni, paragrafe și propoziții care pot fi avute în vedere de către o persoană de specialitate în domeniu.

Următoarele exemple sunt oferite cu titlu de ilustrare și nu cu titlu de limitare.

EXEMPLE

Tabelul 1:

Abreviere	Semnificație
rt	Temperatura camerei
h	Oră(e)
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-enă
BOP	Hexafluorofosfat de benzotriazol-1-iloxi)tris(dimetilamino)fosfoniu
DMA	<i>N,N</i> -dimetilacetamidă
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamidă
EtOAc	Acetat de etil
EtOH	Etanol

Prepararea compușilor

2-amino-5-bromochinazolin-4-ol. Compusul din titlu a fost preparat într-un procedeu analog celui descris pentru 2-amino-6,7-difluorochinazolin-4-ol. Rt: 1,16, m/z = 240/242 [M+H], Metoda: G.

(*R*)-2-((2-amino-5-bromochinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol. O soluție de 2-amino-5-bromochinazolin-4-ol (2,4 g, 8,68 mmol), D-norleucinol (2,75 g, 23,43 mmol), DBU (3,9 mL, 26,0 mmol) și BOP (4,61 g, 10,42 mmol) în DMF anhidru (40 mL) s-a agitat la rt timp de 2 h și s-a concentrat pentru a da produsul din titlu. Rt: 2,16, m/z = 339/341 [M+H], Metoda: D.

(*R*)-2-((2-amino-5-ciclopropilchinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol (1). Un amestec de (*R*)-2-((2-amino-5-bromochinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol (200 mg, 0,59 mmol), acid ciclopropilboronic (151 mg, 1,77 mmol), și fosfat de potasiu (375 mg, 1,77

mmol), în dioxan (10 mL) și apă (0,1 mL), s-a purjat cu azot timp de 10 min. S-a adăugat PdCl₂(dppf) (38 mg, 0,06 mmol) și amestecul s-a agitat 100°C timp de 18h. Solidele s-au îndepărtat prin filtrare și filtratul s-a concentrat sub presiune redusă. Brutul s-a divizat cu eter și apă, stratul organic s-a uscat (MgSO₄), solidele s-au îndepărtat prin filtrare, și solventul din filtrat s-a concentrat în vid. Amestecul s-a purificat prin cromatografie pe coloană de silice utilizând un gradient de la CH₂Cl₂ la [CH₂Cl₂: CH₃OH: NH₃ (9:1:0,1)].

Procedura Generală A. O soluție de 2-amino-chinazolin-4-ol (2.4 g, 8,68 mmol), D-norleucinol (2eq), DBU (3eq.) și BOP (1,3 eq.) în DMF anhidru s-a agitat la rt timp de 2 h și s-a concentrat pentru a da produsul din titlu.

2-amino-5-fluorochinazolin-4-ol. Într-o autoclavă de 500 mL s-a introdus acid 2-amino-6-fluorobenzoic (25 g, 161,16 mmol), EtOH (350 mL), cian amidă (10,16 g, 241,74 mmol) și s-a concentrat HCl (8 mL). Amestecul s-a agitat 80°C timp de 16h, apoi s-a răcit la rt și solidul s-a izolat prin filtrare și s-a spălat cu etanol și s-a uscat sub vid. Rt: 0,93, *m/z* = 180 [M+H], Metoda: H. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) ppm 6,98 (m, 1 H), 7,13 (d, J=8,3 Hz, 1 H), 7,51 (s l., 2 H), 7,64 (m, 1 H), 12,30 (s l., 1 H)

(R)-2-((2-amino-5-fluorochinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol (2). O soluție de 2-amino-5-fluorochinazolin-4-ol (1,07 g, 6 mmol), DBU (1,8 mL, 12 mmol) în DMF anhidru (30 mL) s-a agitat rt sub o atmosferă de azot. S-a adăugat BOP (3,2 g, 7,2 mmol) în porțiuni și s-a agitat timp de 15 minute. S-a adăugat D-norleucinol (1,41 g, 12 mmol) și s-a continuat agitarea timp de 2 zile. Amestecul s-a turnat în gheață apă și s-a agitat 1h. Stratul apos s-a extras cu EtOAc, straturile organice combinate s-au spălat cu apă și saramură. Faza organică s-a uscat peste MgSO₄, solidele s-au îndepărtat prin filtrare și solventul din filtrat s-a îndepărtat sub presiune redusă. Brutul s-a purificat prin HPLC preparativă (XBridge Prep C18 OBD-10 μm, 50 x 150 mm, fază mobilă: 0,25% NH₄HCO₃ aq., CH₃CN) pentru a obține 0,81 g de compus din titlu.

5-(trifluorometil)chinazolin-2,4-diamină. Într-un tub etanș, s-a agitat un amestec de 2-fluoro-6-(trifluorometil)benzonitril (4,5 g, 23,8 mmol) și carbonat de guanidină (8,57 g, 47,6 mmol) în DMA (54 mL) la 130°C timp de 3h. Amestecul de reacție s-a răcit la rt, s-a diluat cu EtOH și solventul s-a îndepărtat sub presiune redusă. Reziduul s-a amestecat cu apă rece și solidul s-a izolat prin filtrare pentru a da compusul din titlu ca un solid cafeniu-roșcat (5,2 g), și s-a utilizat în etapa următoare fără altă purificare.

2-amino-5-(trifluorometil)chinazolin-4-ol. Într-un flacon Schlenck, o suspensie de 5-(trifluorometil)chinazolin-2,4-diamină (5,2 g, 0,02 mol) în NaOH (1M, aq., 329 mL) s-a agitat la 100°C timp de 5h. pH-ul s-a ajustat la 2-3 prin adăugare de HCl (1N aq.). Amestecul s-a concentrat în vid. S-a adăugat apă și solidul s-a izolat prin filtrare pentru a obține produsul din titlu ca un solid alb (4,25 g). Rt: 1,79min, $m/z = 169$ [M+H], metoda I.

(R)-2-((2-amino-5-(trifluorometil)chinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol (3). O soluție de 2-amino-5-(trifluorometil)chinazolin-4-ol (1,5 g, 6,55 mmol), D-norleucinol (2,30 g, 19,6 mmol), DBU (2,94 mL, 19,6 mmol) și benzotriazol-1-il-oxi-trispirolidinofosfoniu hexafluorofosfat (PyBOP) (4,43 g, 8,51 mmol) în DMF anhidru (30 mL) s-a agitat la rt timp de 2 h și s-a concentrat pentru a da produsul din titlu.

(R)-2-((2-amino-5-(trifluorometil)chinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol fumarat. S-a adăugat acid fumaric (346 mg, 2,99 mmol) la o soluție de (R)-2-((2-amino-5-(trifluorometil)chinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol (0,98 g, 2,99 mmol) în CH₃OH (14,3 mL). Soluția rezultată s-a agitat la rt timp de 20 h. Solventul s-a îndepărtat sub presiune redusă apoi s-a uscat în vid pentru a obține compusul din titlu ca o pulbere albă (1,3 g).

(R)-2-((2-amino-7-bromochinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol. O soluție de 2-amino-7-bromochinazolin-4(3H)-onă (3,00 g, 12,5 mmol), D-norleucinol (3,66 g, 31,2 mmol), (DBU) (4,67 mL, 31,2 mmol) și PyBOP (8,45 g, 16,2 mmol) în anhidru (55 mL) s-a agitat la rt timp de 2 h și s-a concentrat pentru a da produsul din titlu. Rt: 1,32min., $m/z = 339/341$ [M+H], metoda J3.

(R)-2-amino-4-((1-hidroxihexan-2-il)amino)chinazolin-7-carbonitril (4). Într-un tub etanș, o soluție de (R)-2-((2-amino-7-bromochinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol (1,43 g, 4,22 mmol), Zn(CN)₂ (594 mg, 5,06 mmol) și Pd(PPh₃)₄ (487 mg, 0,422 mmol; 0,1 eq.) în dioxan (31 mL) s-a degazat prin purjare de N₂ și s-a agitat la 100°C timp de 16 h. S-au adăugat suplimentar Zn(CN)₂ (297 mg; 2,53 mmol) și Pd(PPh₃)₄ (487 mg, 0,422 mmol), amestecul s-a degazat cu azot și s-a agitat la 110°C timp de 4 h. Amestecul de reacție s-a diluat cu EtOAc și apă. Stratul organic s-a uscat peste MgSO₄, solidele s-au îndepărtat prin filtrare și solventul s-a îndepărtat sub presiune redusă, apoi s-a purificat prin cromatografie cu coloană de silicagel utilizând o fază mobilă gradient de CH₂Cl₂/ CH₃OH (100/0 la 80/20) pentru a da compusul din titlu ca solid portocaliu deschis (840 mg).

(R)-2-amino-4-((1-hidroxihexan-2-il)amino)chinazolin-7-carbohidrazidă. S-a adăugat hidrazină (3,00 mL, 96,4 mmol) la o soluție de metil (R)-2-amino-4-((1-hidroxihexan-2-il)amino)chinazolin-7-carboxilat (1,50 g, 4,71 mmol) în EtOH (30 mL). Soluția s-a încălzit la 80°C timp de 18h apoi s-a răcit la rt. Brutul s-a evaporat în vid, pentru a da 1,55 g de compus din titlu ca solid portocaliu deschis care s-a utilizat fără altă purificare în etapa următoare.

(R)-2-((2-amino-7-(1,3,4-oxadiazol-2-il)chinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol

(5). Într-un reactor Schlenk, o soluție de (R)-2-amino-4-((1-hidroxihexan-2-il)amino)chinazolin-7-carbohidrazidă (1,30 g, 3,88 mmol), trietil ortoformiat (22,8 mL, 137 mmol) și acid *p*-toluensulfonic (57 mg, 0,33 mmol) s-a agitat la 90°C timp de 17h. Amestecul de reacție s-a concentrat sub presiune redusă. Reziduul s-a diluat cu EtOAc și s-a spălat cu NaHCO₃ (sat., aq.), apă și saramură. Stratul organic s-a uscat peste MgSO₄, solidele s-au îndepărtat prin filtrare, și solventul din filtrat s-a îndepărtat sub presiune redusă. Brutul s-a purificat cromatografie cu fază inversă (YMC-actus Triart-C18 10 μm 30 x 150 mm, gradient de la 85% aq. NH₄HCO₃ 0,2%, 15% ACN la 45% aq. NH₄HCO₃ 0,2%, 55% ACN) pentru a da produsul din titlu (25 mg)

2-amino-8-metilchinazolin-4-ol. Într-un balon cu fund rotund de 250 mL echipat cu o bară magnetică de agitare s-a introdus acid 2-amino-3-metilbenzoic (10 g, 66,15 mmol), EtOH (250 mL), cian amidă (4,17 g, 99,2 mmol), și s-a concentrat HCl (3 mL). Amestecul s-a agitat la reflux timp de 6h. La intervale de 1h, s-a adăugat HCl concentrat (0,5 mL) printr-o pipetă. Amestecul de reacție s-a răcit la rt și solidele s-au izolat prin filtrare și s-au spălat cu EtOH și s-au uscat sub vid pentru a obține compusul din titlu ca un solid alb murdar (4,8 g). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,41 (s, 3 H), 7,15 (t, J=7,5 Hz, 1 H), 7,43 (s l., 2 H), 7,55 (d, J=7,0 Hz, 1 H), 7,80 (d, J=7,8 Hz, 1 H), 11,17 – 12,49 (m, 1 H). Rt: 0,50min., *m/z* = 176 [M+H], metoda B.

(R)-2-((2-amino-8-metilchinazolin-4-il)amino)pentan-1-ol (6). Într-un flacon de sticlă de 50mL s-a introdus 2-amino-8-metilchinazolin-4-ol (500 mg, 2,71 mmol), DMF anhidru (10 mL), DBU (1,22 mL, 8,13 mmol), și D-norvalinol (1,40 g, 13,6 mmol). La această soluție s-a adăugat BOP (1,44 g, 3,3 mmol). Flaconul s-a etanșat și s-a scuturat timp de 15h la rt. Solventul s-a îndepărtat sub presiune redusă. S-a adăugat NaOH (1M, aq., 10 mL) și s-a spălat cu EtOAc (5 x 20 mL). Straturile organice s-au combinat, s-au uscat (MgSO₄), solidele s-au îndepărtat prin filtrare, și solvenții din filtrat s-au îndepărtat sub presiune redusă. La amestec s-a adăugat EtOAc, produsul a precipitat și s-a izolat ca un solid alb (309 mg).

(R)-2-((2-amino-8-metilchinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol (7). Într-u flacon de 50mL s-a introdus 2-amino-8-metilchinazolin-4-ol (500 mg, 2,24 mmol), DMF anhidru (10 mL), DBU (1,01 mL, 6,7 mmol), și (R)-(-)-2-amino-1-hexanol (1,32 g, 11,2 mmol). La această soluție s-a adăugat BOP (1,19 g, 2,7 mmol). Flaconul s-a etanșat și reacția s-a agitat 15 h la rt. Solventul s-a îndepărtat sub presiune redusă. S-a adăugat NaOH (1M, aq., 10 mL) și s-a spălat cu EtOAc (5 x 20 mL). Straturile organice s-au combinat, s-au uscat (MgSO₄), solidele s-au îndepărtat prin filtrare, și solvenții din filtrat s-au îndepărtat sub presiune redusă. La amestec s-a adăugat EtOAc, și compusul din titlu a precipitat ca un solid alb (161 mg).

2-amino-8-chlorochinazolin-4-ol. Într-un balon cu fund rotund de 1L echipat cu o bară magnetică de agitare s-a introdus acid 2-amino-3-chlorobenzoic (25 g, 146 mmol), EtOH (400 mL), cian amidă (9,2 g, 219 mmol), și HCl conc. (5 mL). Amestecul s-a încălzit la reflux cu agitare. La intervale de 1h, s-a adăugat HCl conc. (1 mL). La 6,5 h, de încălzire s-a îndepărtat și reacția s-a răcit la rt. Solidele s-au izolat prin filtrare, și s-au spălat cu EtOH și eter pentru a obține compusul din titlu ca un solid alb (3,38 g). Rt: 3,37min., $m/z = 196$ [M+H], metoda J2.

(R)-2-((2-amino-8-chlorochinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol (8). Într-un flacon de 50mL s-a introdus 2-amino-8-chlorochinazolin-4-ol (390 mg, 2,0 mmol), DMF anhidru (10 mL), DBU (0,89 mL, 6,0 mmol), și D-norleucinol (1,17 g, 10,0 mmol). La această soluție s-a adăugat BOP (1,06 g, 2,4 mmol). Flaconul s-a etanșat și reacția s-a agitat 15h la rt. Solventul s-a îndepărtat sub presiune redusă. S-a adăugat NaOH (1M, aq., 10 mL) și s-a spălat cu EtOAc (5 x 20 mL). Straturile organice s-au combinat, s-au uscat (sulfat de magneziu), solidele s-au îndepărtat prin filtrare, și solvenții din filtrat s-au îndepărtat sub presiune redusă. La amestec s-a adăugat EtOAc, impuritățile s-au dizolvat și produsul a precipitat. Supernatantul s-a îndepărtat și procesul s-a repetat de două ori. Solventul rămas s-a îndepărtat sub presiune redusă pentru a obține compusul din titlu ca un solid alb (64 mg).

2-amino-8-fluorochinazolin-4-ol. Ester metilic al acidului 2-amino-3-fluorobenzoic (15g, 88,68 mmol) s-a dizolvat în EtOH (100 mL) într-un tub de 250mL sub presiune, apoi s-au adăugat cian amidă (5,59 g, 133 mmol) și HCl (37% în H₂O) și amestecul de reacție s-a agitat 18h la 80°C. După răcire, s-a format un precipitat și s-a izolat prin filtrare, s-a spălat cu EtOH și s-a uscat în vid pentru a obține compusul din titlu ca o pulbere albă. Rt: 0,44min., $m/z = 180$ [M+H], metoda B.

(R)-2-((2-amino-8-fluorochinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol (9). Într-un flacon de 50 mL s-a introdus 2-amino-8-fluorochinazolin-4-ol (400 mg, 1,9 mmol), DMF anhidru (10 mL), DBU (0,83 mL, 5,6 mmol), și D-norleucinol (1,09 g, 9,3 mmol). La această soluție s-a adăugat BOP (0,98 g, 2,2 mmol). Flaconul s-a etanșat și reacția s-a agitat 15h la rt. Solventul s-a îndepărtat sub presiune redusă. S-a adăugat NaOH (1M, aq., 10 mL) și s-a spălat cu EtOAc (5 x 20 mL). Straturile organice s-au combinat, s-au uscat (sulfat de magneziu), solidele s-au îndepărtat prin filtrare, și solvenții din filtrat s-au îndepărtat sub presiune redusă. La amestec s-a adăugat EtOAc și produsul a precipitat pentru a obține compusul din titlu ca un solid alb (224 mg).

(R)-2-((2-amino-8-fluorochinazolin-4-il)amino)pentan-1-ol (10). Într-un flacon de 50 mL s-a introdus 2-amino-8-fluorochinazolin-4-ol (400 mg, 1,9 mmol), DMF anhidru (10 mL), DBU (0,83 mL, 5,6 mmol), și D-norvalinol (766 mg, 7,4 mmol). La această soluție s-a adăugat BOP (0,98 g, 2,2 mmol). Flaconul s-a etanșat și reacția s-a agitat 15h la rt. Solventul s-a îndepărtat sub presiune redusă. S-a adăugat NaOH (1M, aq., 10 mL) și s-a spălat cu EtOAc (5 x 20 mL). Straturile organice s-au combinat, s-au uscat (sulfat de magneziu), solidele s-au îndepărtat prin filtrare, și solvenții din filtrat s-au îndepărtat sub presiune redusă. La amestec s-a adăugat EtOAc, impuritățile s-au dizolvat și produsul din titlu a precipitat ca un solid alb (161 mg).

(R)-2-((2-amino-8-metilchinazolin-4-il)amino)hexil izobutirat (11). (R)-2-((2-amino-8-metilchinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol (2,1 g, 7,65 mmol) s-a dizolvat în DCM (40 mL) și s-a răcit la 0°C. S-a adăugat DBU (2,3 mL, 15,3 mmol) și amestecul s-a agitat 30min. S-a adăugat clorură de izobutiril (1,6 mL, 15,3 mmol) în DCM (10 mL) în picătură și amestecul s-a agitat la rt timp de 18h. Amestecul s-a diluat cu CH₂Cl₂ și s-a spălat cu apă. Stratul organic s-a uscat peste MgSO₄, solidele s-au îndepărtat prin filtrare și solventul din filtrat s-a îndepărtat sub presiune redusă. Brutul s-a purificat printr-o coloană de silice utilizând CH₂Cl₂/ CH₃OH 100/0 la 95/5 ca gradient. Frațiile cele mai bune s-au evaporat și apoi s-au uscat în vid pentru a obține compusul din titlu.

2-amino-5-methoxichinazolin-4-ol. Într-un balon cu fund rotund de 1L echipat cu o bară magnetică de agitare s-a introdus acid 2-amino-6-methoxibenzoic (50 g, 299 mmol), EtOH (400 mL), cian amidă (18,9 g, 448,7 mmol), și HCl conc. (5 mL). Amestecul s-a încălzit la reflux cu agitare și s-a adăugat HCl conc. (1mL) la intervale de 1h peste 6h. Reacția s-a răcit la rt și compusul din titlu a precipitat și s-a izolat ca

un solid alb. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 3,82 (s, 3 H), 5,40 (s l., 1 H), 6,77 (m, 1 H), 6,84 (m, 1 H), 7,23 (s l., 2 H), 7,55 (m, 1 H). Rt: 0,89min, $m/z = 192$ [M+H], metoda G.

(R)-2-((2-amino-5-methoxichinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol (12). Compusul din titlu s-a sintetizat conform Procedurii Generale A, utilizând 2-amino-5-methoxichinazolin-4-ol ca heterociclu de start.

2-amino-7-fluorochinazolin-4-ol. Într-un balon cu fund rotund de 250mL echipat cu o bară magnetică de agitare s-a introdus acid 2-amino-4-fluorobenzoic (10g, 64,46 mmol), EtOH (200 mL), cian amidă (4,06 g, 96,7 mmol), și HCl conc. (3 mL). Amestecul s-a agitat reflux timp de 6h. La intervale de 1h, s-a adăugat HCl conc. (0,5 mL). Amestecul de reacție s-a răcit la rt și solidele s-au izolat prin filtrare și s-au spălat cu EtOH și s-au uscat sub vid pentru a obține compusul din titlu ca un solid alb murdar (2.8 g). Rt: 0,49min, $m/z = 180$ [M+H], metoda B. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 7,01 - 7,16 (m, 2 H), 7,56 (s l., 2 H), 7,99 (m, 1 H), 10,38 – 13,48 (m, 1 H).

(R)-2-((2-amino-7-fluorochinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol (13). Compusul din titlu s-a sintetizat conform Procedurii Generale A, utilizând 2-amino-7-fluorochinazolin-4-ol ca heterociclu de start.

2-amino-7-metilchinazolin-4-ol. Într-un balon cu fund rotund de 250mL echipat cu o bară magnetică de agitare s-a introdus acid 2-amino-4-metilbenzoic (10 g, 64,17 mmol), EtOH (200 mL), cian amidă (4,05 g, 96,3 mmol), și HCl conc. (3 mL). Amestecul s-a agitat reflux timp de 6h. La intervale de 1h, s-a adăugat HCl conc. (0,5 mL). Amestecul de reacție s-a răcit la rt și solidele s-au izolat pentru a obține compusul din titlu ca un solid alb murdar, Rt: 0,50min, $m/z = 176$ [M+H], metoda B. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 2,43 (s, 3 H), 7,22 (d, $J=1,0$ Hz, 1 H), 7,24 (s, 1 H), 7,89 (d, $J=8,0$ Hz, 1 H), 8,29 (s l., 2 H), 12,65 (s l., 1 H)

(R)-2-((2-amino-7-metilchinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol (14). Compusul din titlu s-a preparat conform Procedurii Generale A, utilizând 2-amino-7-metilchinazolin-4-ol ca heterociclu de start.

2-amino-6-fluorochinazolin-4-ol. Metil 2-amino-5-fluorobenzoat (25 g, 147,8 mmol) s-a dizolvat în EtOH (150 mL) într-un tub de presiune de 250 mL, apoi cian amidă (9,32 g, 221,7 mmol) și HCl conc. (27 mL) s-au adăugat și amestecul de reacție s-a agitat peste noapte la 80°C. Reacția s-a răcit la rt, și compusul din titlu s-a izolat ca precipitat.

2-amino-5-chlorochinazolin-4-ol. Compusul din titlu s-a preparat într-o procedură analoagă celei descrise pentru 2-amino-6,7-difluorochinazolin-4-ol. Rt: 3,19min., $m/z = 196$ [M+H], metoda J2.

(R)-2-((2-amino-5-chlorochinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol (15). Compusul din titlu s-a preparat conform Procedurii Generale A, utilizând 2-amino-5-chlorochinazolin-4-ol ca heterociclu de start.

2-amino-5-metilchinazolin-4-ol. Compusul din titlu s-a preparat într-o procedură analoagă celei descrise pentru 2-amino-5-chlorochinazolin-4-ol. Rt: 0,17, $m/z = [M+H]$ 176.1, Metoda: K.

(R)-2-((2-amino-5-metilchinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol (16). Compusul din titlu s-a preparat conform Procedurii Generale A, utilizând 2-amino-5-metilchinazolin-4-ol ca heterociclu de start.

2-amino-3-methoxibenzoic acid metil ester. Un amestec de acid 2-amino-3-methoxibenzoic (6,22 g, 37,21 mmol) și carbonat de cesiu (18,18 g, 55,81 mmol) în DMF (100 mL) s-a agitat la rt timp de 40 min. S-a adăugat CH_3I (2,31 mL, 37,21 mmol) în DMF (15 mL) și amestecul s-a agitat rt peste noapte. Amestecul s-a diluat cu apă și s-a extras cu dietil eter. Faza apoasă s-a extras din nou cu dietil eter. Extractele organice combinate s-au spălat cu saramură, s-au separat, s-au uscat peste MgSO_4 , solidele s-au îndepărtat prin filtrare și filtratul s-a concentrat pentru a se obține compusul din titlu (5,75 g, 31,73 mmol). LC-MS ES^+ $m/z = 182,1$; Rt: 0,68 min, metoda K.

2-amino-8-methoxichinazolin-4-ol. Un amestec de ester metilic al acidului 2-amino-3-methoxibenzoic (5,70 g, 41,46 mmol), cian amidă (1,984 g, 47,19 mmol), HCl 37% (1 mL) în EtOH s-a încălzit la reflux timp de 6 h. La intervale de 1h, s-a adăugat HCl 37% (0,1 mL). Amestecul de reacție s-a răcit la rt și solidul s-a filtrat și s-a spălat cu EtOH pentru a se obține 2-amino-8-methoxi-chinazolin-4-ol (2,70 g, 11,86 mmol). LC-MS ES^+ $m/z = 192,1$; Rt: 0,15 min, metoda K.

(R)-2-((2-amino-8-methoxichinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol (17). Compusul din titlu s-a preparat conform Procedurii Generale A, utilizând 2-amino-8-methoxichinazolin-4-ol ca heterociclu de start.

metil 2-amino-4-hidroxichinazolin-7-carboxilat. Compusul din titlu s-a preparat într-o procedură analoagă celei descrise pentru 2-amino-5-chlorochinazolin-4-ol. Rt: 1,02min, $m/z = 220$ [M+H], metoda H.

Metil (R)-2-amino-4-((1-hidroxihexan-2-il)amino)chinazolin-7-carboxilat (18). Compusul din titlu s-a preparat conform Procedurii Generale A, utilizând metil 2-amino-4-hidroxichinazolin-7-carboxilat ca heterociclu de start.

2-amino-7,8-difluorochinazolin-4(3H)-onă. Dimetilsulfonă (13,9 g, 147 mmol) urmată de sulfolan (1,15 mL, 12,0 mmol), acid 2-amino-3,4-difluorobenzoic (5 g, 28,9 mmol) și cloroformamidină clorhidrat (6,64 g, 57,8 mmol) s-au adăugat succesiv într-un tub etanș și amestecul s-a agitat 165°C timp de 2h. Solidul rezultat s-a adăugat la apă și s-a sonicat. pH-ul s-a ajustat la 7-8 prin adăugare de NH₃ (aq.). Precipitatul s-a colectat prin filtrare pentru a obține compusul din titlu (5,54 g) ca un solid cafeniu-roșcat. Rt: 1,72min., m/z = 198 [M+H], metoda J.

(R)-2-((2-amino-7,8-difluorochinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol (19). Compusul din titlu s-a preparat conform Procedurii Generale A, utilizând metil 2-amino-7,8-difluorochinazolin-4(3H)-onă ca heterociclu de start.

(R)-2-((2-amino-5-fluorochinazolin-4-il)amino)-4-(metilthio)butan-1-ol (20). O soluție de 2-amino-5-fluorochinazolin-4-ol (1 g, 3,964 mmol), DBU (1,183 mL, 7,93 mmol) în DMF anhidru (20 mL) s-a agitat rt sub o atmosferă de azot. BOP (1,93 g, 4,36 mmol) s-a adăugat în porțiuni și s-a continuat agitarea timp de 15 min. S-a adăugat D-norleucinol (929 mg, 7,93 mmol) și s-a continuat agitarea timp de 18h la rt. Soluția s-a purificat prin HPLC preparativă (Faza staționară: RP XBridge Prep C18 ODB- 5 μm, 30 x 250 mm, Fază mobilă: 0,25% NH₄HCO₃ aq., CH₃CN, CH₃OH). (Rt: 0,66 min, m/z = 297 [M+H], Metoda: B)

(2R,3S)-2-((2-amino-5-fluorochinazolin-4-il)amino)-3-metilpentan-1-ol (21). O soluție de 2-amino-5-fluorochinazolin-4-ol (200 mg, 1,12 mmol), DBU (0,333 mL, 2,23 mmol) în DMF anhidru (10 mL) s-a agitat la rt sub o atmosferă de azot. S-a adăugat BOP (543 mg, 1,23 mmol) în porțiuni și s-a continuat agitarea timp de 15 min. S-a adăugat L-izoleucinol (162 mg, 1,34 mmol) și agitarea a continuat timp de 18h la rt. Soluția s-a purificat prin HPLC preparativă (Faza staționară: RP XBridge Prep C18 ODB- 5 μm, 30 x 250 mm, Fază mobilă: 0,25% NH₄HCO₃ aq., CH₃CN). Frațiile dorite s-au colectat și s-au evaporat la sec pentru a obține compusul din titlu cu un ulei. (Rt: 0,79min, m/z = 279 [M+H], Metoda: B).

2-amino-4-hidroxi-N-metilchinazolin-5-carboxamidă. O autoclavă de 75mL din oțel inox s-a purjat cu azot și s-a încărcat cu 2-amino-5-bromochinazolin-4-ol (0,5g, 2,08mmol), Pd(OAc)₂ (4mg, 0,02mmol), 1,3-bis(difenilfosfino)propan (17mg, 0,042mmol), KOAc (408mg, 4,17mmol), metilamină (2M în THF, 10mL), THF (25 mL),

și dizopropiletilamină (2mL). Autoclava s-a etanșat și s-a presurizat la 50 bar CO și s-a încălzit la 100°C timp de 16h. Solventul s-a îndepărtat și reziduul s-a dizolvat în un amestec de CH₃OH/NH₃ (7N), apoi s-a purificat prin HPLC prep (Faza staționară: RP SunFire Prep C18 OBD-10μm, 30 x 150mm, Fază mobilă: 0,25% NH₄HCO₃ aq., CH₃OH). Rt: 0,78min, *m/z* = 219 [M+H], metoda A.

(R)-2-amino-4-((1-hidroxihexan-2-il)amino)-N-metilchinazolin-5-carboxamidă (22). Compusul din titlu s-a preparat conform Procedurii Generale A, utilizând metil 2-amino-4-hidroxi-N-metilchinazolin-5-carboxamidă ca heterociclu de start.

2-amino-5,7-difluorochinazolin-4-ol. Compusul din titlu s-a preparat într-o procedură analoagă celei descrise pentru **2-amino-5-clorochinazolin-4-ol**. Rt: 1,01, *m/z* = 198 [M+H], Metoda: B.

(R)-2-((2-amino-5,7-difluorochinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol (23). O soluție de 2-amino-5,7-difluorochinazolin-4-ol (200 mg, 1,01 mmol), DBU (0,303 mL, 2,03 mmol) în DMF anhidru (10 mL) s-a agitat la rt sub o atmosferă de azot. BOP (494 mg, 1,12 mmol) s-a adăugat în porțiuni și agitarea a continuat timp de 15min. S-a adăugat D-norleucinol (162 mg, 1,38 mmol) și agitarea a continuat timp de 18h. Amestecul s-a turnat în 1mL apă în timp c agitarea a continuat timp de 1h. Solventul s-a evaporat și reziduul s-a preluat în 30 mL CH₃OH, s-a agitat și s-a neutralizat cu HCl conc. Soluția s-a purificat prin HPLC preparativă (Faza staționară: RP XBridge Prep C18 ODB- 5 μm, 30 x 250 mm, fază mobilă: 0,25% NH₄HCO₃aq., CH₃OH).

2-amino-7-(trifluorometil)chinazolin-4-ol. Compusul din titlu s-a preparat într-o procedură analoagă celei descrise pentru **2-amino-5-clorochinazolin-4-ol**. Rt: 1,29, *m/z* = 230 [M+H], Metoda: A.

(R)-2-((2-amino-7-(trifluorometil)chinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol (24). Compusul din titlu s-a preparat conform Procedurii Generale A, utilizând 2-amino-7-(trifluorometil)chinazolin-4-ol ca heterociclu de start.

(R)-2-amino-4-((1-hidroxihexan-2-il)amino)-N,N-dimetilchinazolin-7-carboxamidă (32). Într-un tub etanș, un amestec de metil (R)-2-amino-4-((1-hidroxihexan-2-il)amino)chinazolin-7-carboxilat (1,50 g, 4,71 mmol), dimetilamină (2M în THF, 7 mL) și triazabicyclo[4,4,0]dec-5-enă (TBD) (268 mg, 1,89 mmol) în THF (81 mL) s-a agitat la 50°C timp de 24 h. Solventul s-a îndepărtat sub presiune redusă. Brutul s-a purificat cromatografie cu fază inversă (regular C18 25 μm, 120 g YMC ODS-25), Fază mobilă gradient: de la 70% aq. NH₄HCO₃ (0,2%), 30% CH₃CN la 50% aq.

NH_4HCO_3 (0,2%), 50% MeCN) pentru a obține compusul din titlu ca solid galben deschis (940 mg).

2-amino-5-fluoro-8-metilchinazolin-4-ol. Compusul din titlu s-a preparat într-o procedură analoagă celei descrise pentru 2-amino-5-clorochinazolin-4-ol. Rt: 1,09, $m/z = 194$ [M+H], Metoda: A.

(R)-2-((2-amino-5-fluoro-8-metilchinazolin-4-il)amino)hexan-1-ol (26).

Compusul din titlu s-a preparat conform Procedurii Generale A, utilizând 2-amino-5-fluoro-8-metilchinazolin-4-ol ca heterociclu de start.

2-((2-amino-5-fluorochinazolin-4-il)amino)-2-metilhexan-1-ol. Compusul din titlu s-a preparat conform Procedurii Generale A. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 0,85 (t, $J=6,9$ Hz, 3 H) 1,05 - 1,33 (m, 4 H) 1,41 (s, 3 H) 1,81 - 2,02 (m, 2 H) 3,47 (d, $J=10,6$ Hz, 1 H) 3,66 (d, $J=10,6$ Hz, 1 H) 5,10 (s l, 1 H) 6,23 (s, 2 H) 6,64 - 6,83 (m, 2 H) 7,00 (dd, $J=8,5, 1,0$ Hz, 1 H) 7,36 - 7,51 (m, 1 H). Rt: 0,92 min., $m/z = 293$ [M+H], Metoda: B

2-((2-amino-5-fluorochinazolin-4-il)amino)-2,4-dimetilpentan-1-ol.

Compusul din titlu s-a preparat conform Procedurii Generale A. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 0,88 (dd, $J=6,6, 4,0$ Hz, 6 H) 1,44 (s, 3 H) 1,69 - 1,86 (m, 3 H) 1,87 - 1,92 (m, 2 H) 3,49 (d, $J=10,6$ Hz, 1 H) 3,73 (d, $J=10,6$ Hz, 1 H) 6,25 (s, 2 H) 6,67 (d, $J=18,7$ Hz, 1 H) 6,71 - 6,86 (m, 2 H) 7,01 (dd, $J=8,5, 1,0$ Hz, 1 H) 7,33 - 7,52 (m, 1 H).

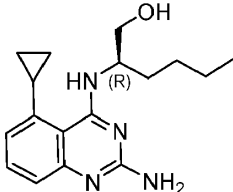
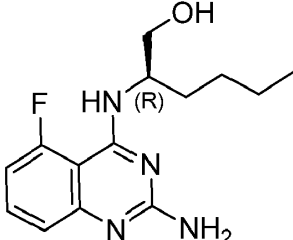
2-((2-amino-5-fluorochinazolin-4-il)amino)hexan-1,3-diol. Compusul din titlu s-a preparat conform Procedurii Generale A. Rt: 1,29 min., $m/z = 295$ [M+H], Metoda: H

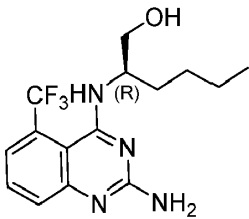
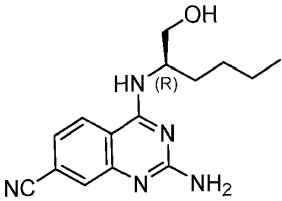
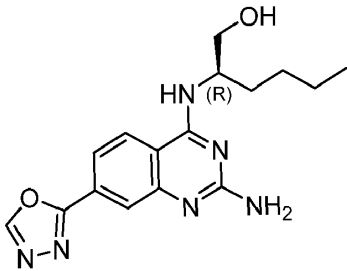
2-((2-amino-5-fluorochinazolin-4-il)amino)-3-metilhexan-1-ol. Compusul din titlu s-a preparat conform Procedurii Generale A. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 0,82 - 0,89 (m, 3 H) 0,89 - 0,98 (m, 3 H) 1,06 - 1,50 (m, 4 H) 1,73 - 2,03 (m, 1 H) 3,44 - 3,75 (m, 2 H) 4,17 - 4,43 (m, 1 H) 4,74 - 4,95 (m, 1 H) 6,23 (s, 2 H) 6,54 - 6,74 (m, 1 H) 6,75 - 6,85 (m, 1 H) 7,03 (dd, $J=8,4, 0,9$ Hz, 1 H) 7,32 - 7,59 (m, 1 H). Rt: 0,87 min., $m/z = 293$ [M+H], Metoda: B

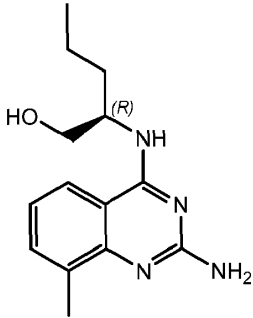
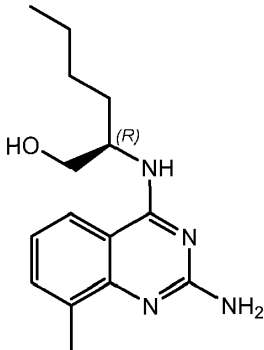
5-fluoro- N^4 -(1-methoxihexan-2-il)chinazolin-2,4-diamină. Compusul din titlu s-a preparat conform Procedurii Generale A. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 0,83 - 0,95 (m, 3 H) 1,23 - 1,39 (m, 4 H) 1,54 - 1,69 (m, 2 H) 3,29 (s, 3 H) 3,36 - 3,56 (m, 2 H) 4,47 - 4,57 (m, 1 H) 6,26 (s, 2 H) 6,65 (dd, $J=15,4, 8,4$ Hz, 1 H) 6,73 - 6,81 (m, 1 H) 7,02 (dd, $J=8,5, 1,0$ Hz, 1 H) 7,44 (td, $J=8,2, 6,7$ Hz, 1 H). Rt: 1,02 min., $m/z = 293$ [M+H], Metoda: B.

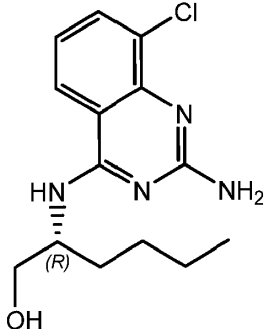
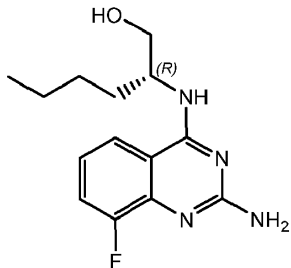
2-((2-amino-5-fluorochinazolin-4-il)amino)hex-5-en-1-ol. Compusul din titlu s-a preparat conform Procedurii Generale A. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1,60 - 1,83 (m, 2 H) 2,02 - 2,20 (m, 2 H) 3,51 - 3,61 (m, 2 H) 4,26 - 4,44 (m, 1 H) 4,92 - 4,97 (m, 1 H) 4,99 - 5,06 (m, 1 H) 5,77 - 6,00 (m, 1 H) 6,28 (s, 2 H) 6,68 - 6,87 (m, 2 H) 7,03 (dd, $J=8,4$, 0,9 Hz, 1 H) 7,35 - 7,54 (m, 1 H). Rt: 1,49 min., $m/z = 277$ [M+H], Metoda: A.

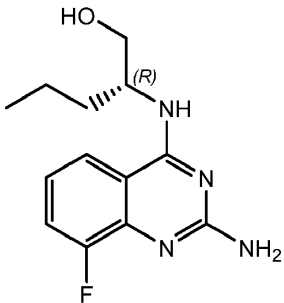
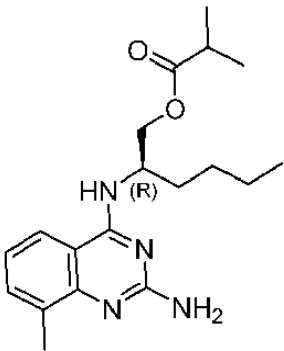
Tabelul 2. Compusi cu formula (I).

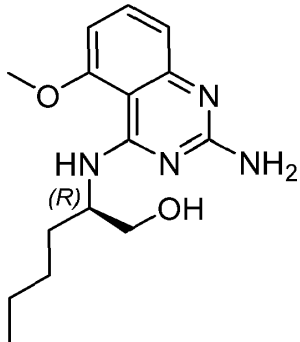
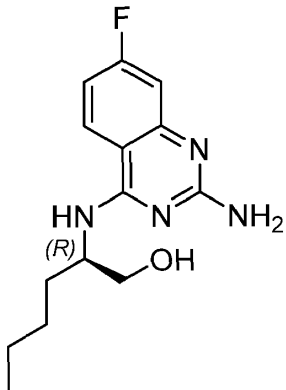
	Structură	¹ H RMN	LC-MS			Punct de topire (°C), metoda	Rotație optică
			<i>m/z</i> <i>M+H</i>	Metoda	Rt (min)		
1		¹ H RMN (300 MHz, CD ₃ OD) δ 7,39 (m, 1H), 7,17 (d, <i>J</i> = 8,3 Hz, 1H), 7,01 (d, <i>J</i> = 7,4 Hz, 1H), 4,47 (m, 1H), 3,75 (m, 2H), 2,35 (m, 1H), 1,74 (m, 2H), 1,52-1-34 (m, 4H), 1,21 (m, 2H), 1,07 (m, 1H), 0,94 (m, 4H). Nu s-au observat protoni care pot fi schimbați.	301	D	2,28	89, A	+0,3° (589 nm, c 0,23 g/v, CH ₃ OH, 23°C)
2		¹ H RMN (360 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0,80 - 0,94 (m, 3 H), 1,23 - 1,43 (m, 4 H), 1,51 - 1,71 (m, 2 H), 3,48 - 3,61 (m, 2 H), 4,34 (d l, <i>J</i> =3,7 Hz, 1 H), 4,91 (t l, <i>J</i> =4,9 Hz, 1 H), 6,29 (s l, 2 H), 6,62 - 6,85 (m, 2 H), 7,02 (d, <i>J</i> =8,3 Hz, 1 H), 7,44 (td, <i>J</i> =8,1, 6,8 Hz, 1 H)	279	B	0,80	175, B	+11,5° (589 nm, c 0,8 g/v, CH ₃ OH, 23°C)

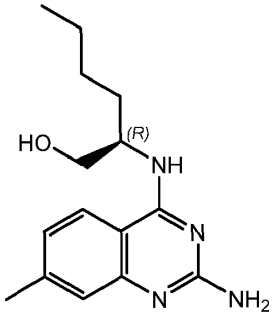
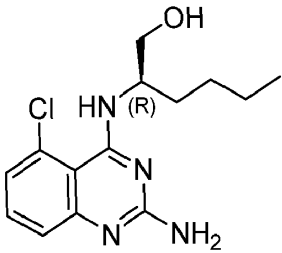
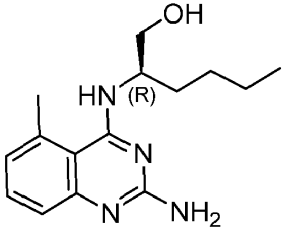
	Structură	¹ H RMN	LC-MS			Punct de topire (°C), metoda	Rotație optică
			<i>m/z</i> <i>M+H</i>	Metoda	Rt (min)		
3		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 7,58-7,65 (m, 1H), 7,52 (m, 2H), 6,51-6,59 (m, 2H), 6,31 (s l, 1H), 4,35 (s l, 1H), 3,47-3,59 (m, 2H), 3,16 (s, 1H), 1,51-1,69 (m, 2H), 1,33 (m, 4H), 0,84-0,90 (m, 3H)	329	F	2,74	49, C	+17,69 ° (589 nm, c 0,26 g/v %, DMF, 20 °C)
4		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 8,24 (m, 1H), 7,49-7,65 (m, 2H), 7,32 (d, <i>J</i> =8,08 Hz, 1H), 6,32 (s l, 2H), 4,69 (m, 1H), 4,34 (m, 1H), 3,39-3,57 (m, 2H), 1,44-1,87 (m, 2H), 1,29 (m, 4H), 0,85 (s l, 3H)	286	F	2,29	222, C	+29,66 ° (589 nm, c 0,29 g/v %, DMF, 20°C)
5		<i>Nu este disponibil</i>	329	F	2,03	206, C	+10,4 ° (589 nm, c 0,25 g/v %, DMF, 20 °C)

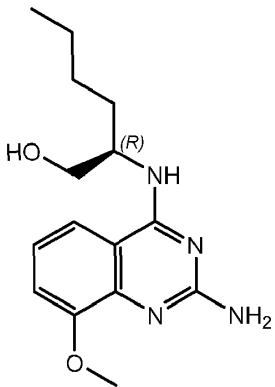
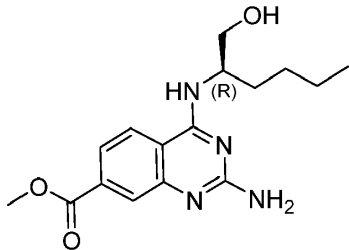
	Structură	¹ H RMN	LC-MS			Punct de topire (°C), metoda	Rotație optică
			<i>m/z</i> <i>M+H</i>	Metoda	Rt (min)		
6		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0,89 (t, J=7,3 Hz, 3 H), 1,23 - 1,43 (m, 2 H), 1,49 - 1,72 (m, 2 H), 2,37 (s, 3 H), 3,41 - 3,56 (m, 2 H), 4,31 - 4,43 (m, 1 H), 4,63 - 4,70 (m, 1 H), 5,88 (s, 2 H), 6,89 (dd, J=8,0, 7,2 Hz, 1 H), 7,16 (d, J=8,4 Hz, 1 H), 7,33 (d, J=7,0 Hz, 1 H), 7,88 (d, J=7,9 Hz, 1 H)	261	B	0,64		
7		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0,81 - 0,90 (m, 3 H), 1,20 - 1,37 (m, 4 H), 1,49 - 1,61 (m, 1 H), 1,64 - 1,76 (m, 1 H), 2,37 (s, 3 H), 3,41 - 3,55 (m, 2 H), 4,34 (td, J=8,7, 5,3 Hz, 1 H), 4,66 (m, 1 H), 5,88 (s, 2 H), 6,90 (m, 1 H), 7,17 (m, 1 H), 7,33 (d, J=7,0 Hz, 1 H), 7,88 (m, 1 H)	275	G	1,33		

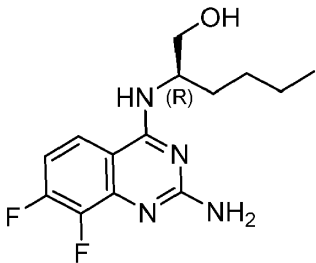
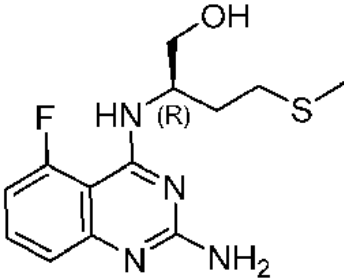
	Structură	¹ H RMN	LC-MS			Punct de topire (°C), metoda	Rotație optică
			<i>m/z</i> <i>M+H</i>	Metoda	Rt (min)		
8		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0,78 - 0,92 (m, 3 H), 1,20 - 1,40 (m, 4 H), 1,48 - 1,62 (m, 1 H), 1,63 - 1,76 (m, 1 H), 3,41 - 3,56 (m, 2 H), 4,35 (m, 1 H), 4,68 (m, 1 H), 6,25 (s l., 2 H), 6,96 (m, 1 H), 7,42 (d, J=8,4 Hz, 1 H), 7,62 (m, 1 H), 8,05 (m, 1 H)	295	B	0,81		
9		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0,80 - 0,91 (m, 3 H), 1,21 - 1,38 (m, 4 H), 1,49 - 1,62 (m, 1 H), 1,65 - 1,77 (m, 1 H), 3,43 - 3,56 (m, 2 H), 4,35 (m, 1 H), 4,68 (m, 1 H), 6,20 (s l., 2 H), 6,94 (m, 1 H), 7,30 (m, 1 H), 7,38 (m, 1 H), 7,89 (m, 1 H)	279	B	0,74		

	Structură	¹ H RMN	LC-MS			Punct de topire (°C), metoda	Rotație optică
			<i>m/z</i> <i>M+H</i>	Metoda	Rt (min)		
10		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0,82 - 0,93 (m, 3 H), 1,19 - 1,44 (m, 2 H), 1,49 - 1,59 (m, 1 H), 1,60 - 1,73 (m, 1 H), 3,42 - 3,63 (m, 2 H), 4,30 - 4,50 (m, 1 H), 4,68 (m, 1 H), 6,20 (s l., 2 H), 6,94 (m, 1 H), 7,29 (m, 1 H), 7,37 (m, 1 H), 7,88 (m, 1 H)	265	B	0,68		
11	 [compus de referință]	¹ H RMN (360 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0,81 - 0,89 (m, 3 H), 1,00 (m, 6 H), 1,22 - 1,37 (m, 4 H), 1,61 (d l, J=7,0 Hz, 2 H), 2,37 (s, 3 H), 2,40 - 2,47 (m, 1 H), 4,03 - 4,10 (m, 1 H), 4,21 (m, 1 H), 4,63 (m, 1 H), 5,97 (s, 2 H), 6,91 (m, 1 H), 7,36 (m, 2 H), 7,86 (m, 1 H)	345	H	1,95		

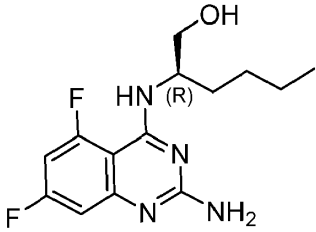
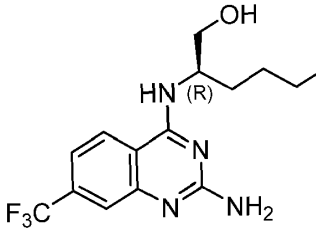
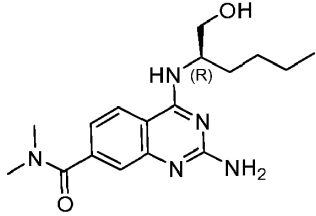
	Structură	¹ H RMN	LC-MS			Punct de topire (°C), metoda	Rotație optică
			<i>m/z</i> <i>M+H</i>	Metoda	Rt (min)		
12		¹ H RMN (300 MHz, CD ₃ OD) δ 7,95-8,06 (m, 1H), 6,82-6,94 (m, 2H), 4,40-4,54 (m, 1H), 3,66 (d, J=5,36 Hz, 2H), 3,31 (s l, 3H), 1,57-1,82 (m, 2H), 1,21-1,47 (m, 4H), 0,91 (s l, 3H). Nu s-au observat protoni care pot fi schimbați.	291	D	2,10		+18,8° (589 nm, c 0,82 g/v, CH ₃ OH, 23 °C)
13		¹ H RMN (300 MHz, CD ₃ OD) δ 7,94 (m, 1H), 6,76-6,85 (m, 2H), 4,34-4,43 (m, 1H), 3,57 (d, J=5,36 Hz, 2H), 1,47-1,72 (m, 2H), 1,29 (s l, 4H), 0,82 (s l, 3H). Nu s-au observat protoni care pot fi schimbați.	279	D	1,97	230, A	+38,62° (589 nm, c 0,78 g/v, CH ₃ OH, 23 °C)

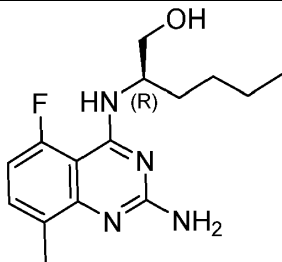
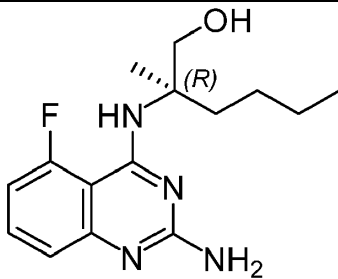
	Structură	¹ H RMN	LC-MS			Punct de topire (°C), metoda	Rotație optică
			m/z M+H	Metoda	Rt (min)		
14		¹ H RMN (300 MHz, CD ₃ OD) δ 7,83 (d, J=8,25 Hz, 1H), 7,09 (s, 1H), 6,97 (d, J=7,70 Hz, 1H), 4,40-4,50 (m, 1H), 3,67 (d, J=5,36 Hz, 2H), 2,40 (s, 3H), 1,58-1,82 (m, 2H), 1,39 (s l, 4H), 0,85-0,97 (m, 3H). Nu s-au observat protoni care pot fi schimbați.	275	D	2,08	227, A	+46,93° (589 nm, c 0,5 g/v, CH ₃ OH, 23 °C)
15		¹ H RMN (300 MHz, CD ₃ OD) δ 7,52 (m, 1H), 7,27 (m, 2H), 4,48 (m, 1H), 3,74 (d, J = 3,9 Hz, 2H), 1,75 (m, 2H), 1,52-1,34 (m, 4H), 0,94 (m, 3H). Nu s-au observat protoni care pot fi schimbați.	295	D	2,15		+21,1° (589 nm, c 0,4 g/v, CH ₃ OH, 23 °C)
16		¹ H RMN (300 MHz, CD ₃ OD) δ 7,62 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 7,29-7,20 (m, 2H), 4,57 (m, 1H), 3,77 (m, 2H), 2,87 (s, 3H), 1,76 (m, 1H), 1,51-1,34 (m, 4H), 0,94 (m, 3H). Nu s-au observat protoni care pot fi schimbați.	275	D	2,07		+9,5° (589 nm, c 0,72 g/v, CH ₃ OH, 23 °C)

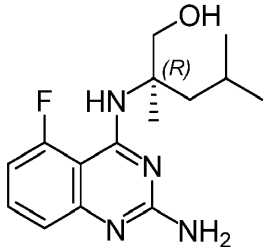
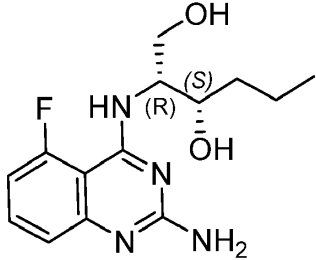
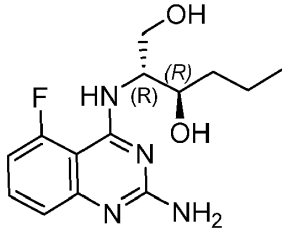
	Structură	¹ H RMN	LC-MS			Punct de topire (°C), metoda	Rotație optică
			<i>m/z</i> <i>M+H</i>	Metoda	Rt (min)		
17		¹ H RMN (300 MHz, CD ₃ OD) δ 7,79 (dd, <i>J</i> = 7,1, 2,1 Hz, 1H), 7,39 (d, 2H), 4,65 (m, 2H), 4,06 (s, 3H), 3,72 (m, 2H), 1,73 (m, H), 1,40 (m, 4H), 0,92 (m, 3H). Nu s-au observat protoni care pot fi schimbați.	291	D	2,07	181, A	+22,6° (589 nm, c 0,6 g/v, CH ₃ OH, 23 °C)
18		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 8,86 (s l, 1H), 8,46 (m, 1H), 8,00 (s, 1H), 7,86 (m, 1H), 4,87 (s, 1H), 4,45 (m, 1H), 3,92 (s, 3H), 3,54 (m, 2H), 3,14 (m, 2H), 1,62 (s l, 2H), 1,19-1,39 (m, 4H), 0,81-0,91 (m, 3H)	319	I	1,89		

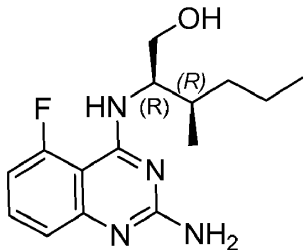
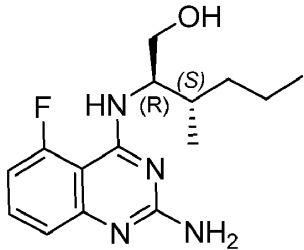
	Structură	¹ H RMN	LC-MS			Punct de topire (°C), metoda	Rotație optică
			<i>m/z</i> <i>M+H</i>	Metoda	Rt (min)		
19		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 7,88-8,02 (m, 1H), 7,48 (m, 1H), 6,94-7,08 (m, 1H), 6,41 (s l, 2H), 4,70 (m, 1H), 4,26-4,41 (m, 1H), 3,47 (m, 2H), 1,60 (m, 2H), 1,28 (m, 4H), 0,78-0,90 (m, 3H)	297	E	2,28	231, C	+29,31 ° (589 nm, c 0,29 g/v %, DMF, 20 °C)
20	 [compus de referință]	¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 1,88 - 1,99 (m, 2 H) 2,05 (s, 3 H) 2,53 - 2,58 (m, 2 H) 3,55-3,59 (m, 2 H) 4,41 (s l, 1 H) 6,25 (s, 2 H) 6,68 - 6,85 (m, 2 H) 7,02 (m, 1 H) 7,36 - 7,52 (m, 1 H)	297	B	0,66		

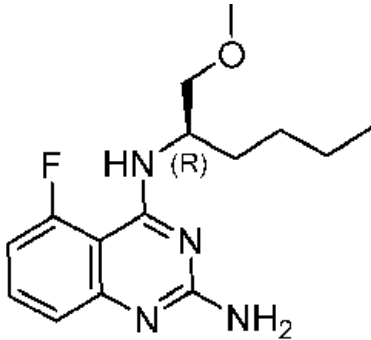
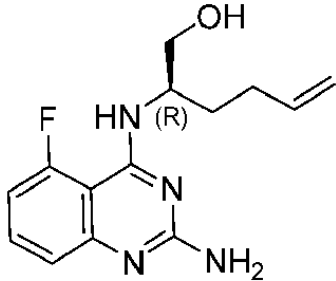
	Structură	¹ H RMN	LC-MS			Punct de topire (°C), metoda	Rotație optică
			<i>m/z</i> <i>M+H</i>	Metoda	Rt (min)		
21		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0,88 (t, J=7,5 Hz, 3 H) 0,94 (d, J=6,8 Hz, 3 H) 1,08 - 1,22 (m, 1 H) 1,48 - 1,59 (m, 1 H) 1,76 - 1,87 (m, 1 H) 3,53 - 3,67 (m, 2 H) 4,18 - 4,29 (m, 1 H) 4,72 - 4,93 (m, 1 H) 6,24 (s, 2 H) 6,66 - 6,75 (m, 1 H) 6,75 - 6,83 (m, 1 H) 7,03 (m, 1 H) 7,44 (m, 1 H).	279	B	0,79		
22		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0,77 - 0,96 (m, 3 H) 1,21 - 1,36 (m, 4 H) 1,37 - 1,51 (m, 1 H) 1,66 (m, 1 H) 2,80 (m, 3 H) 3,34 - 3,42 (m, 2 H) 3,44 - 3,58 (m, 1 H) 4,10 - 4,31 (m, 1 H) 4,70 (t, J=5,1 Hz, 1 H) 6,03 (s, 2 H) 6,94 (m, 1 H) 7,27 (m, 1 H) 7,45 (m, 1 H) 7,70 (m, 1 H) 8,74 (m, 1 H).	318	B	0,61		

	Structură	¹ H RMN	LC-MS			Punct de topire (°C), metoda	Rotație optică
			<i>m/z</i> <i>M+H</i>	Metoda	Rt (min)		
23		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0,78 - 0,94 (m, 3 H) 1,20 - 1,42 (m, 4 H) 1,49 - 1,72 (m, 2 H) 3,48 - 3,57 (m, 2 H) 4,26 - 4,43 (m, 1 H) 4,88 (s l, 1 H) 6,41 (s, 1 H) 6,62 - 6,71 (m, 1 H) 6,72 - 6,77 (m, 1 H) 6,79 - 6,88 (m, 1 H)	297	A	1,68		
24		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0,65 - 0,95 (m, 3 H) 1,18 - 1,43 (m, 4 H) 1,48 - 1,60 (m, 1 H) 1,62 - 1,87 (m, 1 H) 3,50 - 3,54 (m, 2 H) 4,28 - 4,48 (m, 1 H) 4,75 (s l, 1 H) 6,63 (s, 2 H) 7,36 (m, 1 H) 7,49 (s, 1 H) 7,92 (m, 1 H) 8,38 (m, 1 H)	329	A	1,69		
25		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 8,11 (m, 1H), 7,37 (d, J=8,08 Hz, 1H), 7,09 (m, 1H), 6,97 (m, 1H), 6,07 (s, 2H), 4,68 (s l, 1H), 4,34 (m, 1H), 3,47 (m, 2H), 2,99 (s, 3H), 2,90 (s l, 3H), 1,69 (s l, 1H), 1,55 (m, 1H), 1,23-1,37 (m, 4H), 0,85	332	F	1,94	87, C	+23,2 ° (589 nm, c 0,25 g/v %, DMF, 20 °C)

	Structură	¹ H RMN	LC-MS			Punct de topire (°C), metoda	Rotație optică
			<i>m/z</i> <i>M+H</i>	Metoda	Rt (min)		
		(t l, J=5,81 Hz, 3H)					
26		¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0,75 - 0,97 (m, 3 H) 1,19 - 1,42 (m, 4 H) 1,48 - 1,75 (m, 2 H) 2,31 (s, 3 H) 3,43 - 3,62 (m, 2 H) 4,25 - 4,42 (m, 1 H) 4,86 (t, J=5,2 Hz, 1 H) 6,20 (s l, 2 H) 6,55 - 6,82 (m, 2 H) 7,31 (t, J=7,2 Hz, 1 H)	293	A	1,78		
27							

	Structură	¹ H RMN	LC-MS			Punct de topire (°C), metoda	Rotație optică
			<i>m/z</i> <i>M+H</i>	Metoda	Rt (min)		
28							
29							
30							

	Structură	¹ H RMN	LC-MS			Punct de topire (°C), metoda	Rotație optică
			<i>m/z</i> <i>M+H</i>	Metoda	Rt (min)		
31							
32							

	Structură	¹ H RMN	LC-MS			Punct de topire (°C), metoda	Rotație optică
			<i>m/z</i> <i>M+H</i>	Metoda	Rt (min)		
33	 [compus de referință]						
34	 [compus de referință]						

Metode de analiză.

Tabelul 3. Compușii s-au caracterizat prin LC-MS utilizând una dintre următoarele metode:

Cod metodă	Instrument	Coloană	Fază mobilă	Gradient	Debit (mL/min)	Timp de rulare (min)
					Col T(C)	
A	Waters: Acquity® UPLC® - DAD și SQD	Waters HSS T3 (1,8μm, 2,1 × 100mm)	A: 10mM CH ₃ COON H ₄ în 95% H ₂ O + 5% CH ₃ CN B: CH ₃ CN	De la 100% A la 5% A în 2,10min, la 0% A în 0,90min, la 5% A în 0,5min	0,7	3,5
					55	
B	Waters: Acquity® UPLC® - DAD și SQD	Waters BEH C18 (1,7μm, 2,1 × 50mm)	A: 10mM CH ₃ COON H ₄ în 95% H ₂ O + 5% CH ₃ CN B: CH ₃ CN	De la 95% A la 5% A în 1,3 min, menținut timp 0,7 min.	0,8	2
					55	
C	Waters: Acquity® UPLC® - DAD și SQD	Waters HSS T3 (1,8μm, 2,1 × 100mm)	A: 10mM CH ₃ COON H ₄ în 95% H ₂ O + 5% CH ₃ CN B: CH ₃ CN	De la 100% A la 5% A în 2,10 min, la 0% A în 0,90 min, la 5% A în 0,5 min	0,8	3,5
					40	
D	Agilent 1100	- YMC-pack	A: 0,1%	De la 95%	2,6	6,0

Cod metodă	Instrument	Coloană	Fază mobilă	Gradient	Debit (mL/min)	Timp de rulare (min)
					Col T(C)	
	DAD-MSD G1956A	ODS-AQ C18 (50 × 4,6 mm, 3 μm)	HCOOH în H ₂ O. CH ₃ CN	A la 5% A în 4,8 min, menținut timp 1,0 min, la 95% A în 0,2 min.	35	
E	Waters: Acquity® H-Class - DAD și SOD2™	WatersB EHC18 (1,7 μm, 2,1 × 100 mm)	A: CH ₃ COONH ₄ 7mM 95% CH ₃ CN 5%, B: CH ₃ CN	84,2% A/15,8% B la 10,5% A în 2,18 min, menținut timp 1,96 min, înapoi la 84,2% A/15,8% B în 0,73 min, menținut timp 0,49 min.	$\frac{0,343}{40}$	6,1
F	Waters: Acquity UPLC® - DAD și Quattro Micro™	Waters BEH C18 (1,7 μm, 2,1 × 100 mm)	A: CH ₃ COONH ₄ 7mM 95% CH ₃ CN, B: CH ₃ CN 5%	84,2% A for 0,49min, la 10,5% A în 2,18min,	$\frac{0,343}{40}$	6,2

Cod metodă	Instrument	Coloană	Fază mobilă	Gradient	Debit (mL/min)	Timp de rulare (min)
					Col T(C)	
				menținut timp 1,94min, înapoi la 84,2% A în 0,73min, menținut timp 0,73min.		
G	Waters: Acquity® UPLC® - DAD și SQD	Waters: HSS T3 (1,8 μm, 2,1 × 100mm)	A: 10mM CH ₃ COON H ₄ în 95% H ₂ O + 5% CH ₃ CN B: CH ₃ CN	De la 100% A la 5% A în 2,10min, la 0% A în 0,90min, la 5% A în 0,5min	0.8 ----- 55	3,5
H	Waters: Acquity® UPLC® - DAD și SQD	Waters: HSS T3 (1,8μm, 2,1 × 100mm)	A: 10mM CH ₃ COON H ₄ în 95% H ₂ O + 5% CH ₃ CN B: CH ₃ CN	De la 100% A la 5% A în 2,10min, la 0% A în 0,90min, la 5% A în 0,5min	0.7 ----- 55	3,5
I	Waters: Acquity UPLC® H-Class	Waters HSS®-T3 (1,8μm,	A: 95% CH ₃ COONH ₄	49% A/2% B timp	0,45	3,8

Cod metodă	Instrument	Coloană	Fază mobilă	Gradient	Debit (mL/min)	Timp de rulare (min)
					Col T(C)	
					40	
	- DAD și SQD 2	2,1×50m m)	7mM/5% CH ₃ CN, B: 8% CH ₃ CN, C: A/84%B în HCOOH 0,2% în apă	0,25min, la 1,55min, menținut timp 1min, înapoi la 49% A/2% B în 0,2min, menținut timp 0,8min.		
J	Waters: Acquity UPLC® H-Class - DAD și QDa	Waters HSS®-T3 (1,8μm, 2,1×50m m)	A: 95% CH ₃ COONH ₄ 7mM/5% CH ₃ CN, B: 8% CH ₃ CN, C: A/84%B în HCOOH 0,2% în apă	49% A/2% B timp de 0,25min, la 1,55min, menținut timp 1min, înapoi la 49% A/2% B în 0,2min, menținut timp 0,8min.	0.45 --- 40	3,8

Cod metodă	Instrument	Coloană	Fază mobilă	Gradient	Debit (mL/min)	Timp de rulare (min)
					Col T(C)	
J2	Waters: Alliance®-DAD - ZQ și ELSD 2000 Alltech	Waters: Xterra MS C18 (3,5μm, 4,6*100 mm)	A: 25mM CH ₃ COONH ₄ în 95% H ₂ O + 5% CH ₃ CN B: CH ₃ CN C: CH ₃ CN D: CH ₃ OH (40% CH ₃ CN și 40% CH ₃ OH și 20% H ₂ O cu 0,25% CH ₃ COOH	De la 100% A la 1% A, 49% B și 50% C în 6,5 min, la 1% A și 99% B în 0,5 min, la 100% D în 1 min menținut timp 1,0 min la 100% A în 0,5 min și menținut timp 1,5min.	1.6 ----- 40	11
J3	Waters: Acquity UPLC® H-Class - DAD și SQD 2	Waters BEH®C18 (1,7μm, 2,1x50m m)	A: 95% CH ₃ COONH ₄ 7mM/5% CH ₃ CN, CH ₃ CN	De la 95% A la 5% A în 1min, B: menținut timp 1,6min, înapoi la 95% A în 0,2min, menținut	0,5 ----- 40	3,3

Cod metodă	Instrument	Coloană	Fază mobilă	Gradient	Debit (mL/min)	Timp de rulare (min)
					Col T(C)	
				timp 0,5min.		

Metoda LCMS K. Analizele au fost efectuate pe o coloană Phenomenex Kinetex 00B-4475-AN C18 (50 mm × 2,1 mm I.D.; 1,7 μm) la 60°C, cu un debit de 1,5 mL/min. S-a realizat o eluare cu gradient de la 90% (apă + 0,1% HCOOH)/10% CH₃CN la 10% (apă + 0,1% HCOOH)/90% CH₃CN în 1,50 minute; compoziția rezultată fiind menținută timp de 0,40 min; apoi compoziția finală a fazei mobile; de la 10% (Apă + 0,1% HCOOH)/90% CH₃CN la 90% (apă + 0,1% HCOOH)/10% CH₃CN în 0,10 minute. Volumul de injectare a fost de 2 μL cu injectorul autosampler Agilent sau de 5 μL cu injectorul Gerstel MPS. Intervalul de achiziție MS și detectorul DAD au fost setate la 100-800 m/z și, respectiv, 190-400 nm.

Punct de topire. Punctele de topire au fost determinate după următoarele metode:

A. Mettler Toledo MP50

B. DSC: De la 30 la 300°C la 10°C/min 50 ml N₂

C. DSC: 25°C până la 350°C/10°C min/40μl Al

Descrierea analizelor biologice

Evaluarea activității TLR7 și TLR8

Capacitatea compușilor de a activa TLR7 și/sau TLR8 uman a fost evaluată într-un test reporter celular utilizând celule HEK293 transfectate tranzitoriu cu un vector de expresie TLR7 sau TLR8 și construct reporter NFκB-luc. Într-un caz, constructul de expresie TLR exprimă secvența de tip sălbatic respectivă, sau o secvență mutantă care cuprinde o deleție în a doua repetiție bogată în leucină a TLR. S-a demonstrat anterior că astfel de proteine TLR mutante sunt mai susceptibile la activarea agonistului (US 7.498.409 în numele Schering Corporation, al cărui conținut este încorporat aici prin referință).

Celulele HEK293 au fost crescute în mediu de cultură (DMEM suplimentat cu 10% FCS și 2 mM Glutamină). Pentru transfecția celulelor în vase de 10 cm, celulele au fost detașate cu tripsină-EDTA, transfectate cu un amestec de plasmidă CMV-TLR7, sau TLR8 (750 ng), plasmidă NFκB-luc (375 ng) și un reactiv de transfecție și incubate 24h la 37°C într-o atmosferă umidificată de CO₂ 5%. Celulele transfectate au fost apoi detașate cu tripsină-EDTA, spălate în PBS și resuspendate în mediu până la o densitate de $1,67 \times 10^5$ celule/mL. Treizeci de microlitri de celule au fost apoi distribuiți în fiecare godeu în plăci cu 384 de godeuri, unde erau deja prezenți 10 μL de compus în 4% DMSO. După 6h de incubare la 37°C, 5% CO₂, a fost determinată activitatea luciferazei prin adăugarea a 15 μl de substrat STEADY LITE PLUS (PERKIN ELMER) în fiecare godeu și citirea efectuată pe un dispozitiv de microplăci VIEWLUX ULTRAHTS (PERKIN ELMER). Curbele de răspuns la doză au fost generate din măsurători efectuate în patru exemplare. Pentru fiecare compus s-au determinat valorile celor mai scăzute concentrații efective (LEC), definite ca concentrația care induce un efect care este de cel puțin două ori peste deviația standard a testului.

Toxicitatea compusului a fost determinată în paralel utilizând o serie de diluții similare de compus cu 30 μL pe godeu de celule transfectate numai cu constructul CMV-TLR7 ($1,67 \times 10^5$ celule/ml), în plăci cu 384 de godeuri. Viabilitatea celulară a fost măsurată după 6h de incubare la 37°C, 5% CO₂ prin adăugarea a 15 μL de ATP lite (PERKIN ELMER) pe godeu și citirea pe un dispozitiv de microplăci ViewLux ultraHTS (PERKIN ELMER). Datele au fost raportate ca CC₅₀

Tabelul 4. Activitatea biologică a compuşilor cu formula (I) definiți în revendicarea 1

Intrare	hTLR7-wt (LEC)	hTLR8-wt (LEC)
1	>100	0,35
2	27,7	0,07
3	>100	0,66
4	>100	0,14
5	>25	0,38
6	>25	5,75
7	>25	0,46

Intrare	hTLR7-wt (LEC)	hTLR8-wt (LEC)
8	>25	2,72
9	>25	0,11
10	>25	3,27
12	11,3	0,39
13	29,4	0,04
14	11,5	0,11
15	>100	0,07
16	>100	0,19
17	>50	3,74
18	>100	0,57
19	>100	0,41
21	1,71	0,09
22	2,17	1,81
23	6,24	0,04
24	3,36	0,35
25	>100	3,89
26	>100	0,57