



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 95303

(13) C2

(51) МПК

C07D 209/18 (2006.01)

A61K 31/404 (2006.01)

A61P 11/06 (2006.01)

A61P 27/14 (2006.01)

A61P 37/06 (2006.01)

A61P 37/08 (2006.01)

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

(54) 2-ФЕНІЛІНДОЛИ ЯК АНТАГОНІСТИ РЕЦЕПТОРІВ ПРОСТАГЛАНДИНУ D2

1

2

(21) а200901613

(22) 20.07.2007

(24) 25.07.2011

(86) PCT/US2007/073945, 20.07.2007

(31) 60/820,299

(32) 25.07.2006

(33) US

(31) 60/820,301

(32) 25.07.2006

(33) US

(31) 60/820,302

(32) 25.07.2006

(33) US

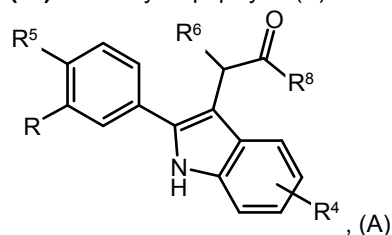
(46) 25.07.2011, Бюл.№ 14, 2011 р.

(72) ЯН ЧЖАОСЯ, US, РАЙЛІНГ ШТЕФАН, US,
НЕДУЗАК ТАДДЕУШ Р., US, МЕТЬЮ РОУЗ М., US,
ДЖЕКСОН ШЕРОН, US, ХАРРИС КІТ ДЖ., US

(73) САНОФІ-АВЕНТИС, FR

(56) WO 2006/081343 A

(57) 1. Сполука формули (A):



де

R являє собою R¹CH₂SO₂⁻, R²CH₂SO₂NH- або R³NHSO₂⁻,R¹ являє собою феніл, необов'язково заміщений галогеном,R² являє собою феніл, заміщений галогеном,R³ являє собою 2,6-дихлорбензил, 3,5-

дихлорбензил, 2,4-дихлорфенілетил, 2-

метоксифенілетил, 3-метоксифенілетил, 4-

метоксифенілетил, 2-трифторметилфенілетил,

феніл етил або 3-феніл-н-пропіл,

R⁴ являє собою водень,R⁵ являє собою хлор,R⁶ являє собою водень іR⁸ являє собою гідрокси; або

R являє собою циклогексиламіносультоніл,

R⁴ являє собою 4-хлор, 4-фтор, 4-метил або 7-хлор,R⁵ являє собою хлор або етил,R⁶ являє собою водень або метил іR⁸ являє собою гідрокси; або

R являє собою циклогексиламіносультоніл,

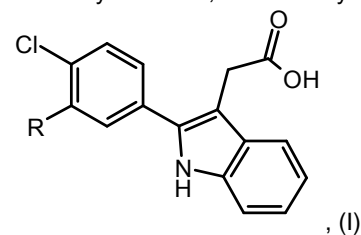
R⁴ являє собою водень,R⁵ являє собою хлор,R⁶ являє собою водень,R⁸ являє собою -NHR⁷ іR⁷ являє собою метил, метилсультоніл, етилсультоніл,

галогеналкілсультоніл або тетразоліл;

або її фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват, її фармацевтично прийнятні проліки або

фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват проліків.

2. Сполука за п. 1, яка є сполукою формули (I):



де

R являє собою R¹CH₂SO₂⁻, R²CH₂SO₂NH- або R³NHSO₂⁻,R¹ являє собою феніл, необов'язково заміщений галогеном,R² являє собою феніл, заміщений галогеном, іR³ являє собою 2,6-дихлорбензил, 3,5-

дихлорбензил, 2,4-дихлорфенілетил, 2-

метоксифенілетил, 3-метоксифенілетил, 4-

метоксифенілетил, 2-трифторметилфенілетил,

фенілетил або 3-феніл-н-пропіл;

або її фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або

сольват, її фармацевтично прийнятні проліки або

(13) C2

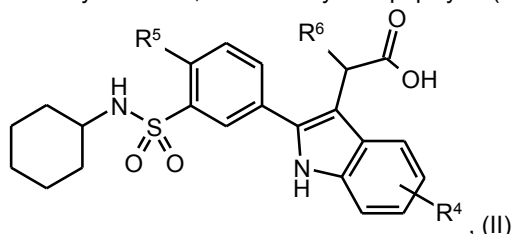
(11) 95303

(19) UA

фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват проліків.

3. Сполука за п. 2, в якій R являє собою R³NHSO₂-, або її фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват, її фармацевтично прийнятні проліки або фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват проліків.

4. Сполука за п. 1, яка є сполукою формули (II):



де

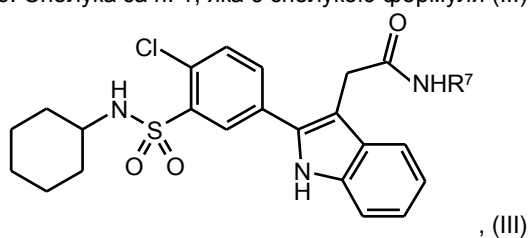
R⁴ являє собою 4-хлор, 4-фтор, 4-метил або 7-хлор,

R⁵ являє собою хлор або етил і

R⁶ являє собою водень або метил, або її фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват, її фармацевтично прийнятні проліки або фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват проліків.

5. Сполука за п. 4, в якій R⁵ являє собою хлор і R⁶ являє собою водень, або її фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват, її фармацевтично прийнятні проліки або фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват проліків.

6. Сполука за п. 1, яка є сполукою формули (III):



де

R⁷ являє собою метил, метилсульфоніл, етилсульфоніл, галогеналкілсульфоніл або тетразоліл, або її фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват, її фармацевтично прийнятні проліки або фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват проліків.

7. Сполука за п. 1, що вибрана з групи:

{2-[4-хлор-3-(2,6-дихлорбензилсульфамойл)феніл]-1H-індол-3-іл}оцтової кислоти,

{2-[4-хлор-3-(3,5-дихлорбензилсульфамойл)феніл]-1H-індол-3-іл}оцтової кислоти,

(2-[4-хлор-3-[2-(2,4-дихлорфеніл)етилсульфамойл]феніл]-1H-індол-3-іл)оцтової кислоти,

(2-[4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл]-1H-індол-3-іл)оцтової кислоти,

(2-[4-хлор-3-[2-(3-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл]-1H-індол-3-іл)оцтової кислоти,

(2-[4-хлор-3-[2-(4-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл]-1H-індол-3-іл)оцтової кислоти,

(2-[4-хлор-3-[2-(2-трифторметоксифеніл)етилсульфамойл]феніл]-1H-індол-3-іл)оцтової кислоти,

[2-(4-хлор-3-фенетилсульфамойл)феніл]-1H-індол-3-іл}оцтової кислоти,

{2-[4-хлор-3-(3-фенілпропілсульфамойл)феніл]-1H-індол-3-іл}оцтової кислоти,

{2-[4-хлор-3-(3-хлорфенілметансульфоніл)феніл]-1H-індол-3-іл}оцтової кислоти,

{2-[4-хлор-3-(3-хлорфенілметансульфоніламіно)феніл]-1H-індол-3-іл}оцтової кислоти,

[4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойл)феніл]-1H-індол-3-іл}оцтової кислоти,

[2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойл)феніл]-4-фтор-1H-індол-3-іл}оцтової кислоти,

[2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойл)феніл]-4-метил-1H-індол-3-іл}оцтової кислоти,

[7-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойл)феніл]-1H-індол-3-іл}оцтової кислоти,

[2-(3-циклогексилсульфамойл-4-етилфеніл)-1H-індол-3-іл}оцтової кислоти,

2-[2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойл)феніл]-1H-індол-3-іл}пропіонової кислоти,

2-[2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойл)феніл]-1H-індол-3-іл]-N-метилацетаміду,

2-хлор-N-циклогексил-5-[3-(2-метансульфоніламіно-2-оксоетил)-1H-індол-2-іл]бензолсульфаміду,

2-хлор-N-циклогексил-5-[3-(2-етансульфоніламіно-2-оксоетил)-1H-індол-2-іл]бензолсульфаміду,

2-хлор-N-циклогексил-5-[3-(2-оксо-2-трифторметансульфоніламіноетил)-1H-індол-2-іл]бензолсульфаміду або

2-[2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойл)феніл]-1H-індол-3-іл]-N-(1H-тетразол-5-іл)ацетаміду,

або її фармацевтично прийнятної солі, гідрату або сольвату, її фармацевтично прийнятих проліків або фармацевтично прийнятної солі, гідрату або сольвату проліків.

8. Фармацевтично прийнятна сіль сполуки за п. 1, що являє собою [4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойл)феніл]-1H-індол-3-іл}ацетат калію.

9. Фармацевтична композиція, що містить фармацевтично ефективну кількість сполуки за п. 1 або її фармацевтично прийнятної солі, гідрату або сольвату, її фармацевтично прийнятих проліків або фармацевтично прийнятної солі, гідрату або сольвату проліків у суміші з фармацевтично прийнятим носієм.

10. Спосіб лікування алергічного захворювання, системного мастоцитозу, порушення, що супроводжується системною активацією мастоцитів, анафілактичного шоку, бронхоконстрикції, бронхіту, екземи, захворювань, що супроводжуються свербіжем, захворювань, які виникають як вторинні захворювання внаслідок поведінки, що супроводжується свербіжем, хронічних обструктивних захворювань легень, ішемічного реперфузійного ушкодження, розладу мозкового кровообігу, хронічного ревматоїдного артриту, плевриту або виразкового коліту у пацієнта, який потребує такого лікування, при якому вводять такому пацієнту фармацевтично ефективну кількість сполуки за п.

1 або її фармацевтично прийнятної солі, гідрату або сольвату, її фармацевтично прийнятних проліків або фармацевтично прийнятної солі, гідрату або сольвату проліків.

11. Спосіб за п. 10, в якому поведінкою, що супроводжується свербіжем, є розчухування або розтирання.

12. Спосіб за п. 10, в якому захворюванням, що виникає як вторинне захворювання внаслідок поведінки, що супроводжується свербіжем, є катаракта, відшаровування сітківки, запалення, інфекція або порушення сну.

13. Спосіб за п. 10, в якому алергічним захворюванням є алергічний риніт, алергічний кон'юнктивіт, atopічний дерматит, бронхіальна астма або харчова алергія.

14. Спосіб за п. 10, в якому захворюванням, що супроводжується свербіжем, є atopічний дерматит або кропивниця.

15. Фармацевтична композиція, що містить фармацевтично ефективну кількість сполуки за п. 1 та сполуку, вибрану з групи, що включає антигістамін, антагоніст лейкотриєну, бета-антагоніст, інгібітор PDE4, антагоніст TP і CrTh2, у суміші з фармацевтично прийнятним носієм.

16. Фармацевтична композиція за п. 15, де антигістаміном є фексофенадин, лоратадин, деслоратадин або цетиризин, антагоністом лейкотриєну є монтелукаст або зафірлукаст, бета-антагоністом є альбутерол, сальбутерол або тербуталін, інгібітором PDE4 є рофлуміласт або ціломіласт, антагоністом TP є раматробан і антагоністом CrTh2 є раматробан.

Галузь винаходу

Даний винахід стосується 2-феніліндолних сполук, їх одержання, фармацевтичних композицій, що містять ці сполуки, і їх фармацевтичного використання у лікуванні патологічних станів, які можна контролювати інгібуванням рецептора простагландину D2.

Рівень техніки

Показано, що локальна стимуляція алергеном пацієнтів з алергічним ринітом, бронхіальною астмою, алергічним кон'юнктивітом і atopічним дерматитом приводить до швидкого зростання рівня простагландину D2 «(PGD2)» у назальній і бронхіальній змивній рідині, сльозах і рідині, зібраній зі шкірного міхура за методом «шкірної камери». PGD2 може здійснювати ряд запальних дій, наприклад підвищувати проникність судин у кон'юнктиві і шкірі, підвищувати опір дихальних шляхів носа, звуження дихальних шляхів і проникнення еозинофілів у кон'юнктиву і трахеї.

PGD2 - основний циклооксигеназний продукт арахідонової кислоти, що продукується мастоцитами при імунологічному стимулюванні [Lewis, RA, Soter NA, Diamond PT, Austen KF, Oates JA, Roberts LJ II, prostaglandin D2 generation after activation of rat and human mast cells with anti-IgE, J. Immunol. 129, 1627-1631, 1982]. Активовані мастоцити, одне з головних джерел PGD2, грають одну з ключових ролей у виникненні алергічної реакції при таких захворюваннях як астма, алергічний риніт, алергічний кон'юнктивіт, алергічний дерматит та інші захворювання [Brightling CE, Bradding P, Pavord ID, Wardlaw AJ, New Insights into the role of the mast cell in asthma, Clin Exp Allergy 33, 550-556, 2003].

Багато впливів PGD2 опосередковується його дією на рецептор простагландину D («DP») - рецептор, зв'язаний з G-білком, що експресується на епітелії та у гладких м'язках.

При астмі респіраторний епітелій вже давно вважається головним джерелом запальних цитокінів і хемокинів, які сприяють прогресуванню захворювання [Holgate S, Lackie P, Wilson S, Roche W, Davies D, Bronchial Epithelium as a Key Regulator of

Airway Allergen Sensitization and Remodeling in Asthma, Am J Respir Crit Care Med. 162, 113-117, 2000]. В експериментальній моделі астми мишей при стимулюванні антигеном відбувається різка активація рецептора DP на епітелії дихальних шляхів [Matsuoka T, Hirata M, Tanaka H, Takahashi Y, Murata T, Kabashima K, Sugimoto Y, Kobayashi T, Ushikubi F, Aze Y, Eguchi N, Urade Y, Yoshida N, Kimura K Mizoguchi A, Honda Y, Nagai H, Narumiya S, Prostaglandin D2 as a mediator of allergic asthma, Science 287, 2013-2017, 2000]. У нокаутних мишей з відсутнім рецептором DP помітно знижується гіперреактивність дихальних шляхів і хронічне запалення [Matsuoka T, Hirata M, Tanaka H, Takahashi Y, Murata T, Kabashima K, Sugimoto Y, Kobayashi T, Ushikubi F, Aze Y, Eguchi N, Urade Y, Yoshida N, Kimura K, Mizoguchi A, Honda Y, Nagai H, Narumiya S, Prostaglandin D2 as a mediator of allergic asthma, Science 287, 2013-2017, 2000] - дві найважливіших ознаки астми людини.

Вважається також, що рецептор DP задіяний в алергічному риніті людини, поширеному алергічному захворюванні, що характеризується такими симптомами як чихання, свербіж, ринорея і закладеність носа. Місцеве застосування PGD2 у носовій порожнині викликає залежне від дози збільшення закладеності носа [Doyle WJ, Boehm S, Skoner DP, Physiologic responses to intranasal dose-response challenges with histamine, methacholine, bradykinin, and prostaglandin in adult volunteers with and without nasal allergy, J Allergy Clin Immunol. 86(6 Pt 1), 924-35, 1990].

Було показано, що антагоністи рецептора DP знижують запалення дихальних шляхів в експериментальній моделі астми морських свинок [Arimura A, Yasui K, Kishino J, Asanuma F, Hasegawa H, Kakudo S, Ohtani M, Arita H (2001), Prevention of allergic inflammation by a novel prostaglandin receptor antagonist, S-5751, J. Pharmacol. Exp Ther. 298(2), 411-9, 2001]. Таким чином, PGD2, очевидно, діє на рецептор DP і грає важливу роль у виявленні основних особливостей алергічної астми.

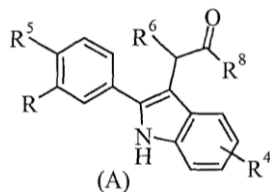
Було показано, що антагоністи DP можуть ефективно ослаблювати симптоми алергічного

риніту у багатьох видів, зокрема, було показано, що вони можуть придушувати індуковану антигенами закладеність носа, найбільш явний симптом алергічного риніту [Jones, T.R., Savoie, C., Robichaud, A., Sturino, C., Scheigetz, J., Lachance, N., Roy, B., Boyd, M., Abraham, W., Studies with a DP receptor antagonist in sheep and guinea pig models of allergic rhinitis, *Am. J. Resp. Crit. Care Med.* 167, A218, 2003; i Arimura A, Yasui K, Kishino J, Asanuma F, Hasegawa H, Kakudo S, Ohtani M, Arita H. Prevention of allergic inflammation by a novel prostaglandin receptor antagonist, S-5751. *J. Pharmacol. Exp Ther.* 298(2), 411-9, 2001].

Антагоністи DP також ефективні в експериментальних моделях алергічного кон'юнктивіту і алергічного дерматиту [Arimura A, Yasui K, Kishino J, Asanuma F, Hasegawa H, Kakudo S, Ohtani M, Arita H, Prevention of allergic inflammation by a novel prostaglandin receptor antagonist, S-5751. *J. Pharmacol. Exp Ther.* 298(2), 411-9, 2001; i Torisu K, Kobayashi K, Iwahashi M, Nakai Y, Onoda T, Nagase T, Sugimoto I, Okada Y, Matsumoto R, Nanbu F, Ohuchida S, Nakai H, Toda M, Discovery of a new class of potent, selective, and orally active prostaglandin D2 receptor antagonists, *Bioorg. & Med. Chem.* 12, 5361-5378, 2004].

Короткий опис винаходу

Даний винахід стосується сполуки формули (A):



де
R являє собою $R^1CH_2SO_2^-$, $R^2CH_2SO_2NH-$ або $R^3NHSO_2^-$,

R^1 являє собою феніл, необов'язково заміщений галогеном,

R^2 являє собою феніл, заміщений галогеном,

R^3 являє собою 2,6-дихлорбензил, 3,5-дихлорбензил, 2,4-дихлорфенілетил, 2-метоксифенілетил, 3-метоксифенілетил, 4-метоксифенілетил, 2-трифторметил-фенілетил, фенілетил або 3-феніл-н-пропіл,

R^4 являє собою водень,

R^5 являє собою хлор,

R^6 являє собою водень і

R^8 являє собою гідрокси; або

R являє собою циклогексиламіносульфоніл,

R^4 являє собою 4-хлор, 4-фтор, 4-метил або 7-хлор,

R^5 являє собою хлор або етил,

R^6 являє собою водень або метил, і

R^8 являє собою гідрокси; або

R являє собою циклогексиламіносульфоніл,

R^4 являє собою водень,

R^5 являє собою хлор,

R^6 являє собою водень,

R^8 являє собою $-NHR^7$ і

R^7 являє собою метил, метилсульфоніл, етилсульфоніл, галогеналкіл-сульфоніл або тетразоліл;

або її фармацевтично прийнятної солі, гідрату або сольвату, її фармацевтично прийнятних проліків або фармацевтично прийнятної солі, гідрату або сольвату проліків.

Іншим аспектом даного винаходу є фармацевтична композиція, що включає фармацевтично ефективну кількість однієї або більше сполук винаходу або їх фармацевтично прийнятної солі, гідрату або сольвату, їх фармацевтично прийнятних проліків або фармацевтично прийнятної солі, гідрату або сольвату проліків у суміші з фармацевтично прийнятним носієм.

Ще один аспект даного винаходу - спосіб лікування пацієнта, який страждає захворюванням, опосередкованим PGD2, у тому числі, зокрема, алергічним захворюванням (наприклад, алергічний риніт, алергічний кон'юнктивіт, атопічний дерматит, бронхіальна астма і харчова алергія), системним мастоцитозом, порушеннями, що супроводжуються системною активацією мастоцитів, анафілактичним шоком, бронхоконстрикцією, бронхітом, екземою, кропивницею, захворюваннями, що супроводжуються свербіжем (наприклад, атопічний дерматит і кропивниця), захворюваннями (наприклад, катаракта, відшаровування сітківки, запалення, інфекція і порушення сну), які виникають як вторинні захворювання внаслідок поведінки, що супроводжується свербіжем (наприклад, розчісування і розтирання), запаленням, хронічним обструктивним захворюванням легень, ішемічним реперфузійним ушкодженням, розладом мозкового кровообігу, хронічним ревматоїдним артритом, плевритом, неспецифічним виразковим колітом і подібними захворюваннями, за допомогою введення такому пацієнту фармацевтично ефективної кількості сполуки винаходу або її фармацевтично прийнятної солі, гідрату або сольвату, її фармацевтично прийнятних проліків або фармацевтично прийнятної солі, гідрату або сольвату проліків.

Докладний опис винаходу

Визначення термінів

Використовувані вище і у всьому тексті опису винаходу наведені нижче терміни, якщо не вказано інакше, мають зазначені далі прийняті значення:

«Сполуки, що складають предмет даного винаходу» і аналогічні вирази включають описані вище у цьому документі сполуки формул (A), (I), (II) або (III), даний термін охоплює проліки, фармацевтично прийнятні солі і сольвати, наприклад, гідрати, де це допускається контекстом. Точно так само посилання на проміжні сполуки, незалежно від того, чи включені вони самі у формулу винаходу, покликане включати солі і сольвати у випадках, де це допускається контекстом.

«Галогеналкіл» означає алкільну групу, що має від одного до трьох галогенів як замісники. У конкретному прикладі галогеналкілом є нижчі алкільні групи, що мають від одного до трьох галогенів як замісники. У більш конкретному випадку галогеналкілом є нижчі алкільні групи, заміщені одним галогеном.

«Галогеналкілсульфоніл» означає галогеналкіл-SO₂-. Приклади включають CF₃-SO₂-.

«Пацієнт» означає людину та інших ссавців.

Використовуваний у цьому документі термін «фармацевтично прийнятні проліки» означає проліки сполук, що складають предмет даного винаходу, які у межах здорової медичної думки є придатними для використання у контакті з тканинами пацієнта, при цьому небажана токсичність, подразнення, алергічна реакція знаходяться у межах розумного співвідношення користь/ризик, а також є ефективними для застосування за призначенням сполук, що складають предмет даного винаходу. Термін «проліки» означає сполуку, яка *in vivo* трансформується з утворенням сполуки винаходу або її фармацевтично прийнятної солі, гідрату або сольовату. Трансформація може відбуватися за різними механізмами, наприклад за допомогою гідролізу у крові. Сполуки зі схильними до метаболічного розпаду групами мають ту перевагу, що вони можуть проявляти підвищену біодоступність внаслідок більш високої розчинності і/або швидкості всмоктування вихідної сполуки, завдяки наявності схильної до метаболічного розпаду групи, тому такі сполуки діють як проліки. Докладне обговорення наводиться у роботах Design of Prodrugs, H. Bundgaard, ed., Elsevier (1985); Methods in Enzymology; K. Widder et al., Ed., Academic Press, 42, 309-396 (1985); A Textbook of Drug Design and Development, Krogsgaard-Larsen and H. Bundgaard, ed., Chapter 5; "Design and Applications of Prodrugs" 113-191 (1991); Advanced Drug Delivery Reviews, H. Bundgaard, 8, 1-38, (1992); J. Pharm. Sci., 77, 285 (1988); Chem. Pharm. Bull., N. Nakeya et al., 32, 692 (1984); Pro-drugs as Novel Delivery Systems, T. Higuchi and V. Stella, 14 A.C.S. Symposium Series, and Bioreversible Carriers in Drug Design, E.B. Roche, ed., American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987; J. Med. Chem., Vol. 47, No. 10, 1-12 (2004), які шляхом посилання на них включаються у цей документ.

Прикладом проліків сполуки винаходу є ефірні проліки. «Ефірні проліки» означають сполуку, яка може перетворюватися *in vivo* у ході метаболічних процесів (наприклад, за допомогою гідролізу) у сполуку винаходу. Наприклад, ефірні проліки сполуки винаходу, що містять карбоксигрупу, можуть перетворюватися за допомогою гідролізу *in vivo* у відповідну сполуку винаходу, наприклад, проліки на основі метилового ефіру, проліки на основі етилового ефіру або проліки на основі 2-диметиламіноетилового ефіру.

«Фармацевтично прийнятні солі» означає нетоксичні, неорганічні і органічні солі сполук, що складають предмет даного винаходу, утворені при додаванні кислоти або основи. Ці солі можуть бути одержані *in situ* на кінцевій стадії виділення і очищення сполук.

«Фармацевтично ефективна кількість» означає кількість сполуки або сполук, які відповідно до даного винаходу ефективні для створення бажаного терапевтичного ефекту, описаного у цьому документі, наприклад зняття алергічної реакції або запалення.

«Сольват» означає сполуку, що складає предмет даного винаходу, фізично зв'язану з однією або декількома молекулами розчинника. До фізичного зв'язування належить утворення водневого зв'язку. У визначених випадках сольват можна буде виділити, наприклад, коли одна або більше молекул розчинника включені у кристалічну решітку твердої кристалічної речовини. Термін «сольват» поширюється як на фазу розчину, так і на сольвати, що виділяються. Типовими сольватами є гідрати, етанолати і метанолати.

Деякі зі сполук, що складають предмет даного винаходу, є основними, і такі сполуки застосовні у формі вільних основ або у формі їх фармацевтично прийнятних солей, утворених при додаванні кислоти.

Солі, утворені при додаванні кислоти, можуть бути більш зручною формою для використання, і на практиці використання сольової форми по суті означає застосування форми вільної основи. До кислот, які можуть використовуватися для приготування солей, належать переважно такі, які при змішуванні з вільною основою приводять до фармацевтично прийнятних солей, тобто солей, аніон яких є нетоксичними для пацієнта у фармакологічних дозах солей, так що корисні ефекти інгібування, властиві вільній основі, не спотворюються побічними ефектами, що приписуються аніонам. Хоча фармацевтично прийнятні солі вказаних основних сполук є переважними, всі солі, утворені при додаванні кислот, являють собою корисні джерела форми вільної основи, навіть якщо конкретна сіль, сама по собі, потрібна тільки лише як проміжний продукт, наприклад, якщо сіль одержують виключно з метою очищення та ідентифікації, або якщо вона використовується як проміжна сполука при одержанні фармацевтично прийнятної солі за допомогою іонообмінних процесів. Зокрема, солі, утворені при додаванні кислот, можуть бути одержані незалежною реакцією очищеної сполуки у формі вільної основи з придатною органічною або неорганічною кислотою і виділенням одержаної таким чином солі. Фармацевтично прийнятні солі, які стосуються даного винаходу, включають солі, одержані з мінеральних і органічних кислот. Приклади солей, утворених при додаванні кислот, включають гідроброміди, гідрохлориди, сульфати, бісульфати, фосфати, нітрат, ацетати, оксалати, валерати, олеати, пальмітати, хінати, стеарати, лаурати, борати, бензоати, лактати, фосфати, тозилати, цитрати, малеати, фумарати, сукцинати, тартрати, нафтилрати, мезилати, глюкогептонати, лактіобіонати, сульфамати, малонати, саліцилати, пропіонати, метилен-біс-β-гідроксинафтоати, гентисати, ізетіонати, ди-паратолоїлтартрати, етансульфонати, бензолсульфонати, циклогексилсульфамати і лаурилсульфонати. Див., наприклад, роботу S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977), яка включена у даний документ як посилання.

Якщо сполука, що складає предмет даного винаходу, заміщена кислотною групою, можуть одержуватися солі, що утворюються при додаванні основи, які є просто більш зручною формою засто-

сування, і на практиці використання сольової форми по суті рівносильне її використанню у формі вільної кислоти. До основ, які можуть використовуватися для приготування солей, належать переважно такі, які при змішуванні з вільною кислотою приводять до фармацевтично прийнятних солей, тобто солей, катіони яких є нетоксичними для пацієнта у фармакологічних дозах солей, так що корисні ефекти інгібування, властиві вільній основі, не спотворюються побічними ефектами, що присутні у катіонах. Солі, утворені при додаванні основи, можна також одержати незалежним чином внаслідок реакції очищеної сполуки в її кислій формі з придатною органічною або неорганічною основою, що утворюється з солей лужних або лужноземельних металів, і виділенням одержаної таким чином солі. До солей, що утворюються при додаванні основи, належать фармацевтично прийнятні солі металів і амінів. До придатних солей металів належать солі натрію, калію, кальцію, барію, цинку, магнію і алюмінію. У конкретному прикладі солями є натрієві і калієві солі. Придатні неорганічні солі, що утворюються при додаванні основи, одержують з основ металів, до яких належать гідррид натрію, гідроксид натрію, гідроксид калію, гідроксид кальцію, гідроксид алюмінію, гідроксид літію, гідроксид магнію, гідроксид цинку і їм подібні. Придатні амініні солі, що утворюються при додаванні основи, одержують з амінів, основність яких достатня для утворення стабільної солі, і, переважно, з амінів, які часто використовуються у медичній хімії внаслідок їх низької токсичності і придатності для використання у медичних цілях, наприклад аміак, етилендіамін, N-метилглуксамін, лізин, аргінін, орнітин, холін, N,N'-дибензилетилендіамін, хлорпрокаїн, діетаноламін, прокаїн, N-бензилфенетиламін, діетиламін, піперазин, трис(гідроксиметил)амінометан, гідроксид тетраметиламонію, триетиламін, дибензиламін, ефенамін, дегідроабіетиламін, N-етилпіперидин, бензиламін, тетраметиламоній, тетраетиламоній, метиламін, диметиламін, триметиламін, етиламін, основні амінокислоти, наприклад лізин і аргінін, і дициклогексиламін.

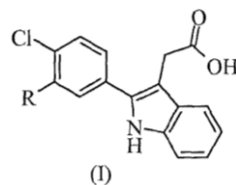
Являючись корисними самі по собі як активні сполуки, солі сполук, що складають предмет даного винаходу, корисні для цілей очищення сполук, наприклад за рахунок використання різниці у розчинності солей і вихідних сполук, побічних продуктів і/або вихідних матеріалів за допомогою відомих фахівцям методів.

Очевидно, що сполуки, які складають предмет даного винаходу, можуть містити асиметричні центри. Ці асиметричні центри можуть незалежно один від одного бути в R- або в S-конфігурації. Для фахівця у галузі техніки очевидно, що визначені сполуки, які складають предмет даного винаходу, можуть також проявляти геометричну ізомерію. Потрібно розуміти, що даний винахід поширюється на окремі геометричні ізомери і стереоізомери і їх суміші, у тому числі рацемічні суміші сполук винаходу. Такі ізомери можна виділити з їх сумішей за допомогою відомих методів або їх модифікацій, наприклад хроматографічних методів або методів перекристалізації, або одержати окремо з відпові-

дних ізомерів проміжних сполук. Крім того, у ситуаціях, де можливі таутомери сполук винаходу, даний винахід включає всі таутомерні форми таких сполук.

Сполуки, що складають предмет даного винаходу, а також проміжні і вихідні речовини, що використовуються для їх одержання, називають відповідно до номенклатури ІЮПАК, в якій характеристичні групи при найменуванні мають наступний пріоритет за зменшенням важливості: кислоти, ефіри, аміді та ін. Проте, вважається, що якщо для якої-небудь зі сполук, представленої як структурною формулою, так і номенклатурною назвою, є невідповідність між структурною формулою і номенклатурною назвою, правильною необхідно вважати структурну формулу.

Одним конкретним здійсненням даного винаходу є сполука формули (I),



де

R являє собою $R^1CH_2SO_2^-$, $R^2CH_2SO_2NH^-$ або $R^3NHSO_2^-$;

R^1 являє собою феніл, необов'язково заміщений галогеном;

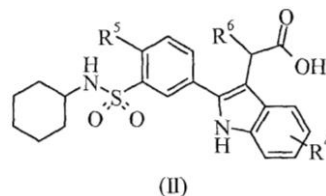
R^2 являє собою феніл, заміщений галогеном; і

R^3 являє собою 2,6-дихлорбензил, 3,5-дихлорбензил, 2,4-дихлорфенілетил, 2-метоксифенілетил, 3-метоксифенілетил, 4-метоксифенілетил, 2-трифторметил-фенілетил, фенілетил або 3-феніл-н-пропіл,

або її фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват, її фармацевтично прийнятні проліки або фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват проліків.

Ще одним конкретним здійсненням даного винаходу є сполука формули (I), де R являє собою $R^3NHSO_2^-$, її фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват, її фармацевтично прийнятні проліки або фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват проліків.

Ще одним конкретним здійсненням даного винаходу є сполука формули (II),



де

R^4 являє собою 4-хлор, 4-фтор, 4-метил або 7-хлор;

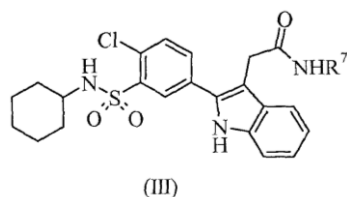
R^5 являє собою хлор або етил і

R^6 являє собою водень або метил;

або її фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват, її фармацевтично прийнятні проліки або фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват проліків.

Ще одним конкретним здійсненням даного винаходу є сполука формули (II), де R⁵ являє собою хлор і R⁶ являє собою водень, або її фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват, її фармацевтично прийнятні проліки або фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват проліків.

Ще одним конкретним здійсненням даного винаходу є сполука формули (III),



де R⁷ являє собою метил, метилсульфоніл, етилсульфоніл, галогеналкіл-сульфоніл або тетразоліл,

або її фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват, її фармацевтично прийнятні проліки або фармацевтично прийнятна сіль, гідрат або сольват проліків.

Ще одним конкретним здійсненням даного винаходу є сполука, що вибирається з наведеного нижче:

{2-[4-хлор-3-(2,6-дихлорбензилсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл}оцтової кислоти,
 {2-[4-хлор-3-(3,5-дихлорбензилсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл}оцтової кислоти,
 (2-[4-хлор-3-[2-(2,4-дихлорфеніл)етилсульфамойл]феніл]-1Н-індол-3-іл)оцтової кислоти,
 (2-[4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл]-1Н-індол-3-іл)оцтової кислоти,
 (2-[4-хлор-3-[2-(3-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл]-1Н-індол-3-іл)оцтової кислоти,
 (2-[4-хлор-3-[2-(4-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл]-1Н-індол-3-іл)оцтової кислоти,
 (2-[4-хлор-3-[2-(2-трифторметоксифеніл)етилсульфамойл]феніл]-1Н-індол-3-іл)оцтової кислоти,
 [2-(4-хлор-3-фенетилсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл}оцтової кислоти,
 {2-[4-хлор-3-(3-фенілпропілсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл}оцтової кислоти,
 2-[2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл]-N-метилацетаміду,
 [4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл}оцтової кислоти,
 калій[4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл]ацетату,

[2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойл)феніл]-4-фтор-1Н-індол-3-іл}оцтової кислоти,

[2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойл)феніл]-4-метил-1Н-індол-3-іл}оцтової кислоти,

[7-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл}оцтової кислоти,

2-хлор-N-циклогексил-5-[3-(2-метансульфоніламіно-2-оксоетил)-1Н-індол-2-іл]бензолсульфаміду,

2-хлор-N-циклогексил-5-[3-(2-етансульфоніламіно-2-оксоетил)-1Н-індол-2-іл]бензолсульфаміду,

2-хлор-N-циклогексил-5-[3-(2-оксо-2-трифторметансульфоніламіноетил)-1Н-індол-2-іл]бензолсульфаміду,

2-[2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл]-N-(1Н-тетразол-5-іл)ацетаміду,

[2-(3-циклогексилсульфамойл-4-етилфеніл)-1Н-індол-3-іл]оцтової кислоти,

2-[2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл]пропіонової кислоти,

{2-[4-хлор-3-(3-хлорфенілметансульфоніл)феніл]-1Н-індол-3-іл}оцтової кислоти або

{2-[4-хлор-3-(3-хлорфенілметансульфоніламіно)феніл]-1Н-індол-3-іл}оцтової кислоти,

або її фармацевтично прийнятної солі, гідрату або сольвату, її фармацевтично прийнятних проліків або фармацевтично прийнятної солі, гідрату або сольвату проліків.

Сполуки, що складають предмет даного винаходу, проявляють активність як антагоністи рецептора простагландину D2 і можуть використовуватися як активні фармакологічні речовини. Відповідно, вони включаються у фармацевтичні композиції і використовуються у лікуванні пацієнтів, які страждають визначеними медичними порушеннями.

Сполуки в обсязі даного винаходу є антагоністами рецептора простагландину D2 відповідно до тестів, описаних у літературі, а також описаних у наведеному нижче розділі про фармакологічні тести, результати яких, як вважається, корелюють з фармакологічною дією в організмі людини та інших ссавців. Таким чином, у ще одному здійсненні даного винаходу представлені сполуки, що складають предмет даного винаходу, і композиції, що містять їх, які можуть використовуватися у лікуванні пацієнтів, які страждають захворюваннями або схильні до захворювань, що можна полегшити введенням антагоніста PGD2. Наприклад, сполуки даного винаходу тому можуть використовуватися для лікування різних захворювань, опосередкованих PGD2, у тому числі, зокрема, алергічного захворювання (наприклад, алергічний риніт, алергічний кон'юнктивіт, atopічний дерматит, бронхіальна астма і харчова алергія), системного мастоцитозу, порушень, що супроводжуються системною активацією мастоцитів, анафілактичного шоку, бронхоконстрикції, бронхіту, кропивниці, екземи, захворювань, що супроводжуються свербіжем (наприклад, atopічний дерматит і кропивниця), захворювань (наприклад, катаракта, відшарову-

вання сітківки, запалення, інфекція і порушення сну), які виникають як вторинні захворювання внаслідок поведінки, що супроводжується свербіжем (наприклад, розчісування і розтирання), запалення, хронічних обструктивних захворювань легенів, ішемічного реперфузійного ушкодження, розладу мозкового кровообігу, хронічного ревматоїдного артриту, плевриту, неспецифічного виразкового коліту і подібних захворювань.

Крім того, сполуки, що складають предмет даного винаходу, можуть використовуватися для лікування у поєднанні з:

(i) антигістамінами, наприклад, фексофенадин, лоратадин і цетиризин, для лікування алергічного риніту;

(ii) антагоністами лейкотриєну, наприклад, монтелукаст і зафірлукаст, для лікування алергічного риніту, ХОЗЛ, алергічного дерматиту, алергічного кон'юнктивіту та ін. - точну інформацію див. у WO 01/78697 A2;

(iii) бета-агоністами, наприклад, альбутерол, сальбутерол і тербуталін, для лікування астми, ХОЗЛ, алергічного дерматиту, алергічного кон'юнктивіту та ін.;

(iv) антигістамінами, наприклад, фексофенадин, лоратадин, деслоратадин і цетиризин, для лікування астми, ХОЗЛ, алергічного дерматиту, алергічного кон'юнктивіту та ін.;

(v) інгібіторами PDE4 (фосфодіестерази 4), наприклад, рофлуміласт і циломіласт, для лікування астми, ХОЗЛ, алергічного дерматиту, алергічного кон'юнктивіту та ін.; або

(vi) з антагоністами TP (рецептора тромбоксану A2) або антагоністами Ca^{2+} (молекули, гомологічної рецептору хемоатрактанту, що експресується на Th2 клітинах), наприклад, раматробран (BAY-u3405), для лікування ХОЗЛ, алергічного дерматиту, алергічного кон'юнктивіту та ін.

Особливим здійсненням терапевтичних способів, що складають предмет даного винаходу, є лікування алергічного риніту.

Ще одним особливим здійсненням терапевтичних способів, що складають предмет даного винаходу, є лікування бронхіальної астми.

Відповідно до ще одного пункту винаходу пропонується спосіб лікування пацієнта (людини або тварини), який страждає захворюваннями, або схильний до захворювань, які можуть бути полегшені введенням антагоніста рецептора простагландину D2, наприклад захворюваннями, описаними вище, що включає введення пацієнту ефективної кількості сполуки, що складає предмет даного винаходу, або складу, що містить її. Під «ефективною кількістю» мається на увазі кількість сполуки, що складає предмет даного винаходу, яка ефективна як антагоніст рецептора простагландину D2 і тому здатна надавати бажаний терапевтичний ефект.

Включені в опис посилення на лікування поширюються як на профілактичну терапію, так і на лікування діагностованих захворювань.

Даний винахід поширюється також на фармацевтичні композиції, які включають, щонайменше, одну сполуку, що складає предмет даного винаходу, у суміші з фармацевтично прийнятним носієм.

На практиці сполуки, що складають предмет даного винаходу, можуть вводитися у вигляді фармацевтично прийнятних лікарських форм людині та іншим тваринам за допомогою місцевого або системного застосування, у тому числі перорального, інгаляційного, ректального, назального, букального, сублінгвального, вагінального, кишкового, парентерального (у тому числі підшкірного, внутрішньом'язового, внутрішньовенного, внутрішньошкірного, інтратекального і епідурального), інтрацистерального і внутрішньочеревинного. Потрібно приймати до уваги, що переважний спосіб введення може варіюватися, наприклад, в залежності від стану пацієнта.

«Фармацевтично прийнятними лікарськими формами» називаються лікарські форми сполуки, що складає предмет даного винаходу, які включають, наприклад, таблетки, драже, порошки, еліксири, сиропи, рідкі склади, у тому числі суспензії, спреї, інгалянти, таблетки, коржикі, емульсії, розчини, гранули, капсули і супозиторії, а також рідкі склади для ін'єкцій, у тому числі ліпосомні препарати. Загальний опис методів і складів можна знайти в останньому виданні Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PA.

Особливим аспектом даного винаходу є сполука, що складає предмет даного винаходу, яка повинна вводитися у формі лікарського препарату. Відповідно до даного винаходу, фармацевтичні композиції складаються зі сполук, що складають предмет даного винаходу, і фармацевтично прийнятних носіїв.

Фармацевтично прийнятні носії мають у своєму складі принаймні один з компонентів, якими можуть бути фармацевтично прийнятні носії, розріджувачі, оболонки, ад'юванти, формоутворювальні наповнювачі або середовища, такі як консерванти, наповнювачі, розпушувачі, змочувальні речовини, емульгатори, стабілізатори емульсій, суспендуєчі речовини, ізотонічні речовини, підсолюєчі речовини, смакові домішки, ароматизатори, барвники, бактерицидні засоби, протигрибкові засоби, інші терапевтичні речовини, змашувальні речовини, речовини, що сповільнюють або прискорюють всмоктування, і дозуючі речовини, в залежності від особливостей способу введення і лікарської форми.

Прикладами суспендуєчих речовин є етоксильовані ізостеарилові спирти, поліоксіетиленсорбіт і складні ефіри сорбітану, мікрокристалічна целюлоза, метагідроксид алюмінію, бентоніт, агар-агар і трагакант або суміші цих речовин.

Прикладами бактерицидних і протигрибкових речовин, що запобігають дії мікроорганізмів, є парабени, хлорбутанол, фенол, сорбінова кислота і т.п. Прикладами ізотонічних речовин є цукор, хлорид натрію і т.п. Прикладами речовин, що сповільнюють і прискорюють всмоктування, є моностеарат алюмінію і желатин.

Прикладами речовин, що прискорюють і стимулюють абсорбцію, є диметилсульфоксид і його аналоги.

Прикладами розріджувачів, розчинників, носіїв, солюбілізуючих домішок, емульгаторів і стабілі-

заторів емульсії є вода, хлороформ, сахароза, етанол, ізопропіловий спирт, етиловий ефір вугільної кислоти, етилацетат, бензиловий спирт, тетрагідрофурфуриловий спирт, бензилбензоат, поліолі, пропіленгліколь, 1,3-бутиленгліколь, гліцерин, поліетиленгліколі, диметилформамід, Tween® 60, Span® 60, цетостеариловий спирт, міристиловий спирт, гліцерилмоностеарат і лаурилсульфат натрію, складні ефіри сорбітану і жирних кислот, рослинні олії (такі як бавовняна олія, арахісова олія, олія пшеничних зародків, оливкова олія, касторова олія і кунжутна олія) і органічні складні ефіри, що ін'єктуються, такі як етилолеат і йому подібні, або придатні суміші цих сполук.

Прикладами формоутворювальних наповнювачів є лактоза, молочний цукор, цитрат натрію, карбонат кальцію і дикальційфосфат.

Прикладами розпушувачів є крохмаль, альгінові кислоти і деякі складні силікати.

Прикладами ковзних речовин є стеарат магнію, лаурилсульфат натрію, тальк, а також поліетиленгліколі з високою молекулярною вагою.

Вибір фармацевтично прийнятного носія, загалом, визначається відповідно до хімічних властивостей активної сполуки, таких як розчинність, метод введення і норми, яких необхідно дотримуватися у фармацевтичній практиці.

Фармацевтичні композиції, що складають предмет даного винаходу, придатні для перорального застосування, можуть являти собою лікарські засоби, такі як тверді лікарські форми, такі як капсули, облатки або таблетки, кожна з яких містить визначену кількість активного інгредієнта, або такі як порошки або гранули, або рідкі лікарські форми, такі як розчини або суспензії у водному або неводному рідкому середовищі, або рідкій емульсії масло-у-воді або вода-у-маслі. Активний інгредієнт також може бути у вигляді болусу, електуарію або пасти.

«Тверда лікарська форма» означає лікарську форму сполуки, що складає предмет даного винаходу, у вигляді твердої речовини, наприклад капсули, таблетки, пілюлі, порошку, драже або гранули. У таких лікарських формах сполука, що складає предмет даного винаходу, додана в як мінімум один традиційно використовуваний інертний формоутворювальний наповнювач (або носій), наприклад, цитрат натрію або дикальційфосфат, або (а) наповнювачі або середовища, такі як, наприклад, крохмаль, лактоза, сахароза, глюкоза, маніт і кремнієва кислота, (b) зв'язувальні речовини, наприклад карбоксиметилцелюлоза, альгінати, желатин, полівінілпіролідон, сахароза і камедь, (c) зволожуючі речовини, такі як, наприклад, гліцерин, (d) розпушувачі, такі як, наприклад, агар-агар, карбонат кальцію, картопляний або тапіоковий крохмаль, альгінова кислота, визначені складні силікати і Na_2CO_3 , (e) уповільнювачі утворення розчинів, такі як, наприклад, парафін, (f) прискорювачі абсорбції, такі як, наприклад, четвертинні амонієві сполуки, (g) зволожуючі речовини, такі як, наприклад, цетиловий спирт і гліцерилмоностеарат, (h) адсорбенти, такі як, наприклад, каолін або бентоніт, (i) ковзні речовини, такі як, наприклад, тальк, стеарат кальцію, стеарат магнію, тверді поліетиленгліколі,

лаурилсульфат натрію, (j) скаламучувальні компоненти, (k) буферні речовини і речовини, що вивільняють сполуку або сполуки, що складають предмет даного винаходу, з відстрочкою у визначеній частині кишкового тракту.

Таблетка може бути приготована пресуванням або формуванням і може мати один або декілька допоміжних компонентів. Пресовані таблетки можна одержувати пресуванням у придатному апараті активного інгредієнта у сипкій формі, такий як порошок або гранули, необов'язково змішаний зі зв'язувальною речовиною, ковзною речовиною, інертним розріджувачем, консервантом, поверхнево-активною або диспергуючою речовиною. Можуть використовуватися такі інертні наповнювачі як лактоза, цитрат натрію, карбонат кальцію, дикальційфосфат і розпушувачі, такі як крохмаль, альгінові кислоти і визначені складні силікати, змішані з ковзними речовинами, такими як стеарат магнію, лаурилсульфат натрію і тальк. Суміш порошкоподібних сполук, змочену інертним рідким розріджувачем, можна формувати на придатному апараті для одержання формованих таблеток. Таблетки можуть мати покриття або насічки, а також можуть мати склад, що забезпечує повільне або контрольоване вивільнення активного інгредієнта, що міститься у них.

Тверді склади також можуть використовуватися як наповнювачі у желатинових капсулах з м'яким або твердим наповненням з використанням таких інертних наповнювачів як лактоза або молочний цукор, а також поліетиленгліколі з великою молекулярною вагою і подібних їм речовин.

У випадку необхідності, а також для більш ефективного поширення, сполуки можуть бути мікроінкапсульовані у системах повільного або направленого вивільнення, таких як біосумісні, біорозкладані полімерні матриці (наприклад, співполімер c1,1-лактиду з гліколідом), ліпосоми і мікросфери, або приєднані до них, а потім підшкірно і внутрішньом'язово ін'єктовані методом, називаним підшкірною або внутрішньом'язовою ін'єкцією уповільненого всмоктування, що забезпечує повільне безперервне вивільнення сполуки або сполук протягом 2 тижнів або довше. Сполуки можуть бути стерилізовані, наприклад фільтрацією через фільтр, що затримує бактерії, або додаванням стерилізуючих речовин у формі стерильних твердих складів, які можуть бути розчинені у стерильній воді або іншому стерильному середовищі, що ін'єктуються, безпосередньо перед застосуванням.

«Рідка лікарська форма» означає форму активної сполуки, яка вводиться пацієнту у рідкій формі, наприклад, у вигляді фармацевтично прийнятих емульсій, розчинів, суспензій, сиропів і еліксирів. Крім активних сполук, рідкі лікарські форми можуть містити звичайно застосовувані у даній галузі інертні розріджувачі, такі як розчинники, солюбілізуючі речовини і емульгатори.

При використанні водних суспензій вони можуть містити емульгатори або речовини, які сприяють утворенню суспензій.

Фармацевтичні композиції, придатні для місцевого застосування, представляють склади у формі, що допускає місцеве введення пацієнту.

Склади можуть мати форму мазей місцевого застосування, бальзамів, порошків, спреїв та інгаляторів, гелів (на водній або спиртовій основі), кремів, що звичайно використовуються у даній галузі, або бути включеними у матричну основу для застосування як пластир, що забезпечує контрольоване вивільнення сполуки через шкірний бар'єр. У формі мазі активні інгредієнти можуть використовуватися з парафіновими або водорозчинними основами. В альтернативному варіанті активні інгредієнти можуть мати форму крему з масляно-водною основою. Склади, призначені для місцевого застосування в око, являють собою очні краплі, в яких активний інгредієнт розчинений або зважений у придатному носії, як правило, водному розчиннику. Склади, призначені для місцевого застосування через слизову рота, включають лікарські льодяники, що мають у своєму складі активний інгредієнт у смаковій основі, як правило, сахарозі і камеді або трагаканті; пастилки, що мають у своєму складі активний інгредієнт в інертній основі, такий як желатин і гліцерин або сахароза і камедь; іклади для полоскання рота, що мають у своєму складі активний інгредієнт у придатному рідкому носії.

Масляна фаза емульсійних фармацевтичних композицій може бути одержана звичайним способом з відомих інгредієнтів. Ця фаза може мати у своєму складі тільки емульгатор (також називаний емульгуючою речовиною), однак бажано, щоб до неї також входив як мінімум один емульгатор, що містить жир або масло, або емульгатор, що містить і жир, і масло. В одному конкретному здійсненні винаходу у склад включений гідрофільний емульгатор поряд з ліпофільним емульгатором, який діє як стабілізатор. Емульгатор(и) разом зі стабілізатором(ами) або без нього утворюють віск, що емульгується, а разом з маслом або жиром утворюють основу мазі, що емульгується, яка є масляною диспергованою фазою кремових складів.

За бажанням водна фаза кремової основи може включати, наприклад, не менше 30% ваг./ваг. багатоатомного спирту, тобто спирту з двома або більше гідроксильними групами, наприклад пропіленгліколь, бутан-1,3-діол, манітол, сорбітол, гліцерин і поліетиленгліколь (у тому числі PEG 400) і їх суміші. Склади для місцевого застосування можуть, якщо необхідно, мати у своєму складі сполуку, що стимулює всмоктування або проникнення активного інгредієнта через шкіру або інші уражені зони.

Вибір придатних масел або жирів для використання у складі залежить від властивостей, які необхідно одержати. Бажано, щоб крем був нежирним продуктом придатної консистенції, що не залишає плям і змивається, і не допускає витоків з тюбиків та інших ємностей. Можуть використовуватися лінійні і розгалужені одно-і двоохосновні алкілові ефіри, такі як діізопропілміристат, децилолеат, ізопропілпальмітат, бутілстеарат, 2-етилгексилпальмітат або суміш складних ефірів з розгалуженим ланцюгом, відома як Crodamol CAP. Вони можуть використовуватися окремо або у сумішах, в залежності від бажаних властивостей. Як

альтернатива можуть використовуватися ліпіди з високою температурою плавлення, такі як білий м'який парафін і/або рідкий парафін та інші мінеральні масла.

Фармацевтичними композиціями для ректального або вагінального застосування називаються склади, форма яких допускає ректальне або вагінальне введення пацієнту, і які містять як мінімум одну сполуку, що складає предмет даного винаходу. Супозиторії являють собою одну з форм таких складів, яку можна одержати змішуванням сполук, що складають предмет даного винаходу, з придатними неподразнюючими інертними середовищами або носіями, наприклад, олія какао, поліетиленгліколь або воскова основа супозиторію, які знаходяться у твердому стані при звичайних температурах, але стають рідкими при температурі тіла і тому плавляться при ректальному або вагінальному введенні і вивільняють активний інгредієнт.

Фармацевтичні композиції, що вводяться за допомогою ін'єкції, можуть вводитися внутрішньом'язово, внутрішньовенно, внутрішньочеревинно і/або підшкірно. Склади, що складають предмет даного винаходу, готують у рідких розчинах, зокрема у фізіологічно сумісних буферах, таких як розчин Хенка або розчин Рінгера. Крім того, склади можуть бути приготовані у твердій формі і розчинені або зважені безпосередньо перед застосуванням. Можливі також ліофілізовані форми. Склади є стерильними і включають емульсії, суспензії, водні і неводні розчини для ін'єкцій, які можуть містити суспендуючі речовини, загусники і антиоксиданти, буфери, бактеріостати і домішки, що роблять склад ізотонічним, і його рН повинен бути приведений у відповідність з кров'ю пацієнта, якому буде вводитися препарат.

Фармацевтичними композиціями, що складають предмет даного винаходу, придатними для назального або інгаляційного застосування, називаються склади, форма яких придатна для введення пацієнту назально або інгаляційно. Склад може містити носій у формі порошку з розмірами частинок, наприклад, у діапазоні від 1 до 500 мікрон (у тому числі з розмірами частинок у діапазоні від 20 до 500 мікрон з кроком 5 мікрон, тобто з розмірами 30 мікрон, 35 мікрон і т.д.). До придатних складів з рідким носієм для застосування, наприклад, як спрею або крапель для носа, належать водні або масляні розчини активного інгредієнта. Склади, придатні для аерозольного введення, можуть бути одержані відповідно до традиційних методів і можуть вводитися з іншими терапевтичними речовинами. Для введення складів, що складають предмет даного винаходу, як інгаляційна терапія можуть використовуватися дозуючі інгалятори.

Дійсне дозування активного інгредієнта (інгредієнтів) у складах, що складають предмет даного винаходу, можна варіювати з метою одержання кількості активного інгредієнта (інгредієнтів), ефектної для одержання бажаного терапевтичного ефекту для визначеного складу і методу його введення пацієнту. Тому дозування, що вибирається для кожного пацієнта, залежить від множини фак-

торів, таких як бажаний терапевтичний ефект, спосіб введення, бажана тривалість лікування, етіологія і тяжкість захворювання, стан пацієнта, вага, стать, дієта і вік, тип і активність кожного активного інгредієнта, швидкість абсорбції, метаболізм і/або виділення та інших факторів.

Повна денна доза сполук, які складають предмет даного винаходу, що вводиться пацієнту у вигляді однієї або декількох доз, може складати, наприклад, приблизно від 0,001 до 100 мг/кг маси тіла на день, переважно від 0,01 до 10 мг/кг/день. Наприклад, для дорослого дози, як правило, складають приблизно від 0,01 до 100, переважно приблизно від 0,01 до 10 мг/кг маси тіла на день при інгаляції, приблизно від 0,01 до 100, переважно від 0,1 до 70, бажано від 0,5 до 10 мг/кг маси тіла на день при пероральному введенні, і приблизно від 0,01 до 50, переважно від 0,01 до 10 мг/кг маси тіла на день при внутрішньовенному введенні. Процентний вміст активного інгредієнта може бути різним, але він повинен забезпечувати одержання придатного дозування. Лікарські форми можуть містити окремі одиниці дози, що дозволяють одержати бажану денну дозу. Природно, що форми, які містять декілька одиниць дози, можуть вводитися приблизно одночасно. Введення доз може бути настільки частим, наскільки необхідно для досягнення бажаного терапевтичного ефекту. Деякі пацієнти можуть проявляти швидку реакцію у відповідь на більш високу або більш низьку дозу, і для них можуть виявитися достатніми набагато більш слабкі підтримуючі дози. Для інших пацієнтів можуть знадобитися довгострокові курси лікування з частотою від 1 до 4 доз на день відповідно до фізіологічних потреб кожного конкретного пацієнта. Зрозуміло, що для інших пацієнтів може бути потрібно не більше однієї або двох доз на день.

Стандартні дози складів можуть бути одержані будь-яким з традиційно використовуваних у фармацевтичній практиці методів. Такі методи включають стадію зв'язування активного інгредієнта з носієм, що складається з одного або декількох допоміжних інгредієнтів. Як правило, склади одержують однорідним і ретельним зв'язуванням активного інгредієнта з рідкими носіями або дрібнозернистими твердими носіями, або і тими і іншими, з подальшим формуванням продукту, якщо це необхідно.

Склади можуть бути в упаковках по одній дозі або по декілька доз, наприклад, запаяні ампули і пляшечки з еластичними пробками, і можуть зберігатися у ліофілізованому стані, що потребує тільки додавання стерильного рідкого носія, наприклад, води для ін'єкцій, безпосередньо перед застосуванням. Індивідуальні розчини для ін'єкцій і суспензії можуть бути приготовані зі стерильних порошків, гранул або таблеток описаних вище типів.

Сполуки, що складають предмет даного винаходу, можуть бути одержані за допомогою застосування або адаптації відомих методів, під якими маються на увазі методи, що використовувалися раніше або описані у літературі, наприклад, описані у роботі R.C. Larock in *Comprehensive Organic Transformations*, VCH publishers, 1989.

Ефірні проліки сполук винаходу можуть бути одержані поєднанням сполук винаходу, що мають

у своєму складі карбоксигрупу, зі спиртом з формулою YOH (де Y являє собою алкіл або алкіл, заміщений аміно, алкіламіно або діалкіламіно), щоб одержати ефірний зв'язок за допомогою стандартних методів поєднання. Приклади включають поєднання у присутності HBTU і, як варіант, у присутності DIEA, у DCM при кімнатній температурі.

Відповідно до ще однієї ознаки винаходу, утворені при додаванні кислоти солі сполук, що складають предмет даного винаходу, можна одержати внаслідок реакції вільної основи з відповідною кислотою за допомогою відомих методів або їх модифікацій. Наприклад, утворені при додаванні кислоти солі сполук, що складають предмет даного винаходу, можна одержати або розчиненням вільної основи у воді або водному розчині спирту або інших придатних розчинників, що містять відповідну кислоту, і виділенням солі випарюванням розчину, або внаслідок реакції вільної основи і кислоти в органічному розчиннику, де сіль випадає в осад або випарюється з розчину.

Сполуки, що складають предмет даного винаходу, можна регенерувати з їх солей, утворених приєднанням кислоти за допомогою відомих методів або їх модифікацій. Наприклад, вихідні сполуки, що складають предмет даного винаходу, можна регенерувати з їх солей, утворених приєднанням кислоти, лугами, наприклад водним розчином бікарбонату натрію або водним розчином аміаку.

Сполуки, що складають предмет даного винаходу, можна регенерувати з їх солей, утворених приєднанням основи, за допомогою відомих методів або їх модифікацій. Наприклад, вихідні сполуки, що складають предмет даного винаходу, можна регенерувати з їх солей, утворених приєднанням основи, обробкою кислотою, наприклад соляною кислотою.

Сполуки, що складають предмет даного винаходу, можна без великих зусиль одержувати або утворювати у процесі, що складає предмет даного винаходу, як сольвати (наприклад, гідрати). Гідрати сполук, що складають предмет даного винаходу, можуть бути без великих зусиль одержані шляхом перекристалізації з суміші з водного/органічного розчинника за допомогою таких органічних розчинників як діоксан, THF або MeOH.

Ще однією відмінною ознакою даного винаходу є одержання утворених при додаванні основи солей сполук, що складають предмет даного винаходу, внаслідок реакції вільної кислоти з відповідною основою за допомогою відомих методів або їх модифікацій. Наприклад, утворені при додаванні основи солі сполук, що складають предмет даного винаходу, можна одержати або розчиненням вільної кислоти у воді або водному розчині спирту або інших придатних розчинників, що містять відповідну основу, і виділенням солі випарюванням розчину, або внаслідок реакції вільної кислоти і основи в органічному розчиннику, де сіль випадає в осад або випарюється з розчину.

Вихідні або проміжні сполуки можна одержати за допомогою способів, описаних у даній заявці або адаптацією відомих способів.

Сполуки, що складають предмет даного винаходу, способи їх одержання, а також: їх біологічна активність будуть більш очевидні з розгляду наведених далі прикладів, які наводяться тільки як ілюстрація і не повинні розглядатися як такі, що обмежують обсяг винаходу. Сполуки, що складають предмет даного винаходу, ідентифікували, наприклад, за допомогою наведених нижче аналітичних методів:

рідинну хроматографію високого тиску і мас-спектрометрію (PXMC) для визначення часу утримування (R_T) і відповідних мас іонів проводять з використанням одного з наведених далі способів:

мас-спектри (MC) записують на мас-спектрометрі Micromass LCT. Метод включає іонізацію позитивним електророзпиленням і сканування маси m/z від 100 до 1000. Рідинну хроматографію здійснюють за допомогою бінарного насоса і дегазатора Hewlett Packard 1100 Series; нерухома фаза: колонка Phenomenex Synergi 2 μ Hydro-PvP 20x4,0 мм, рухома фаза: A=0,1% мурашина кислота (FA) у воді, B=0,1% FA в ацетонітрилі. Об'єм введення 5 мкл за допомогою системи CTC Analytical PAL. Швидкість потоку елюенту становить 1 мл/хв. Градієнт складає від 10% B до 90% B за 3 хвилини і від 90% B до 100% B за 2 хвилини. Допоміжні детектори: УФ детектор Hewlett Packard 1100 Series, довжина хвилі = 220 нм, і випарний детектор світлорозсіювання (ELS) Sedere SEDEX 75, температура детектора = 46°C, тиск N_2 =4 бар.

Спектри ядерного магнітного резонансу (ЯМР) 300 МГц 1H записують при кімнатній температурі на спектрометрі Varian Mercury (300 МГц) з 5-мм датчиком ASW. В ЯМР величини хімічного зсуву (δ) вказані у мільйонних частках (м.ч.) відносно тетраметилсилану (TMS) як внутрішнього стандарту.

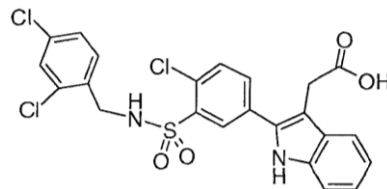
У наведених далі прикладах і описах синтезу, а також в іншій частині заявки, використовувані терміни мають наведені нижче значення: «кг» - кілограми, «г» - грами, «мг» - міліграми, «мкг», «цг» - мікрограми, «моль» - молі, «ммоль» - мілімолі, «М» - молярність, «мМ» - мілімолярність, «мкМ», « μ М» - мікромолярність, «нМ» - наномолярність, «л» - літри, «мл» мілілітри, «мкл», « μ л» - мікролітри, «°C» - градуси Цельсія, «т.пл.» - точка плавлення, «т.к.» - точка кипіння, «мм рт.ст.» - тиск у міліметрах ртутного стовпчика, «см» - сантиметри, «нм» - нанометри, «абс.» - абсолютний, «конц.» - концентрований, «с» - концентрація у г/мл, «к.т.» - кімнатна температура, «ТШХ» - тонкошарова хроматографія, «ВЕРХ» - високоефективна рідинна хроматографія, «в/ч» - внутрішньочеревинно, «в/в» - внутрішньовенно, «с» - синглет, «д» - дублет, «т» - триплет; «кв» - кватет; «м» - мультиплет, «дд» - дублет дублетів; «уш.» - розширений, «РХ» - рідинний хроматограф, «МС» мас-спектрограф, «ESI/MS» - іонізація в електроспрее/мас-спектрограф, « R_T » - час утримування, «М» - молекулярний іон, «PSI» - «фунтів на кв.дюйм» - фунтів на квадратний дюйм, «DMSO» - диметилсульфоксид, «DMF» - N,N-диметилформамід, «CDI» - 1,1'-карбонілдіімідазол, «DCM» або «CH₂Cl₂» - дихлорметан, «HCl» - соляна кислота, «SPA» - SPA-аналіз (сцинтиляційний аналіз з ви-

користанням молекулярно імпринтованих полімерів), «ATTC» - Американська колекція типових культур, «FBS» - ембріональна бичача сироватка, «МПС» - мінімальне підтримуюче середовище, «імп./хв.» - кількість імпульсів за хвилину, «EtOAc» - етилацетат, «PBS» - фосфатний буферний фізіологічний розчин, «ТМД» - трансмембранний домен, «IBMX» - 3-ізобутил-1-метилксантин, «сAMP» - циклічний аденозинмонофосфат, «ІЮПАК» - Міжнародний союз теоретичної і прикладної хімії, «МГц» - мегагерц, «ПЕГ» - поліетиленгліколь, «MeOH» - метанол, «N» - нормальність, «THF» - тетрагідрофуран, «год.» - година, «хв.» - хвили-на(и), «MeNH₂» - метиламін, «N₂» - газоподібний азот, «iPrOH» - ізопропіловий спирт, «O.D.» - зовнішній діаметр, «MeCN» або «CH₃CN» - ацетонітрил, «Et₂O» - етиловий ефір, «TFA» - ТФК, «преп РХ» - препаративна рідинна флеш-хроматографія, «ТФЕ» - твердофазова екстракція, «LAN» - літійалюмінійгідрид, «пмол» - пікомолярність, «гептан» - н-гептан, смола «HMBA-AM» - амінометильна смола 4-гідроксиметилбензойної кислоти, «PdCl₂(dppf)₂» - комплекс дихлориду 1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероценпаладію(II) у DCM, «HBTU» - 2-(1H-бензотриазол-1-іл)-1,1,3,3-тетраметилуроній гексафторфосфат, «DIEA» - діізопропілетиламін, «CsF» - цезію фторид, «LiOH» - гідроксид літію, «~» - приблизно, «IC₅₀» - концентрації сполуки, що дають 50% інгібування у SPA-аналізі цАМФ у Т-клітинах LSI74 людини.

Приклади

Приклад 1

(а) {2-[4-хлор-3-(2,4-дихлорбензилсульфамойл)феніл]-1H-індол-3-іл}оцтова кислота



Стадія 1. Димлячу азотну кислоту (1,5 л) охолоджують приблизно до -5°C у льодяній бані з сіллю. Протягом 30 хв. до перемішаного механічною мішалкою розчину порціями додають 4-(4-хлорфеніл)-4-оксомасляну кислоту (150 г, 0,706 моль) і реакційну суміш перемішують при температурі приблизно від -5°C до -7°C протягом 3,5 годин. Реакційну суміш виливають у воду з холодним льодом (3 л) і перемішують протягом ночі при кімнатній температурі. Твердий осад фільтрують, промивають водою до нейтральних змивів, сушать на повітрі, а потім досушують у вакуумній печі приблизно при 85°C для одержання 4-(4-хлор-3-нітрофеніл)-4-оксомасляної кислоти у вигляді твердої речовини (159,1 г).

Стадія 2. До перемішаної механічною мішалкою суспензії 4-(4-хлор-3-нітрофеніл)-4-оксомасляної кислоти (150 г, 0,582 моль) у воді (900 мл) і концентрованій HCl (12 мл) підливають розчин бісульфіту натрію (393 г, 2,07 моль, у 800 мл води) протягом 40 хвилин при 100-105°C. Після

додавання суміш нагрівають зі зворотним холодильником протягом 1 години. рН коректується до ~2 додаванням 4н HCl (100 мл). Суміш нагрівають зі зворотним холодильником ще 30 хвилин, доводять до кімнатної температури і фільтрують для одержання 4-(3-аміно-4-хлорфеніл)-4-оксомаєляної кислоти у вигляді твердої речовини (79,3 г). РХ/МС: $R_T=2,39$ хв., МС: 228 (М+Н); ^1H ЯМР (300 МГц, DMCO-D_6) δ 2,51 (т, J=6 Гц, 2Н), 3,11 (т, J=6 Гц, 2Н), 5,58 (с, 2Н), 7,1 (дд, J=6,2 Гц, J=2 Гц, 1Н), 7,29 (д, J=8 Гц, 1Н), 7,36 (д, J=2 Гц, 1Н), 12,08 (уш.с, 1Н).

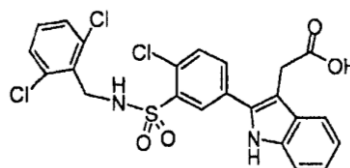
Стадія 3. 4-(3-Аміно-4-хлорфеніл)-4-оксомаєляну кислоту (16,2 г, 71,16 ммоль) у DMF (20 мл) додають до суміші концентрованої HCl (35 мл) і льоду (150 г). Розчин нітриту натрію (5,25 г, 76,1 ммоль) у воді (18 мл) підливають піпеткою, зануривши її кінець у розчин, протягом 5 хвилин при температурі від -5°C до -10°C . Реакційну суміш нагрівають до 0°C і перемішують протягом 15 хвилин. Одержаний розчин повільно додають при кімнатній температурі до суміші дигідрату хлориду міді (5,58 г, 32,7 ммоль) у льодяній оцтовій кислоті (175 мл), який був насичений газоподібним діоксидом сірки. Одержаний розчин перемішують протягом 45 хвилин при кімнатній температурі, додають воду (500 мл) і розчин перемішують протягом 1 години. Посудину охолоджують до 10°C і осад фільтрують та промивають водою для одержання 4-(4-хлор-3-хлорсульфонілфеніл)-4-оксомаєляної кислоти у вигляді твердої речовини (12,94 г). РХ/МС: $R_T=2,68$ хв., МС: 310 (М+Н); ^1H ЯМР (300 МГц, DMCO-D_6) δ м.ч. 2,56 (т, J=6 Гц, 2Н), 3,19 (т, J=6 Гц, 2Н), 7,51 (д, J=8 Гц, 1Н), 7,87 (дд, J=6 Гц, J=2 Гц, 1Н), 8,39 (д, J=2 Гц, 1Н), 12,66 (уш.с, 1Н).

Стадія 4. 4-(4-Хлор-3-хлорсульфонілфеніл)-4-оксомаєляну кислоту (2 г, 6,43 ммоль) додають до перемішаного розчину 2,4-дихлорбензиламіну (2,82 г, 16 ммоль) у суміші DCM:MeOH (1:1, 50 мл) при 0°C . Реакційну суміш нагрівають до кімнатної температури і перемішують протягом 20 годин. Реакційну суміш підкислюють 2н водної HCl (рН ~2) і двічі екстрагують дихлорметаном. Об'єднану органічну фазу промивають водою, сольовим розчином, сушать над сульфатом натрію і випарюють у вакуумі для одержання 4-[4-хлор-3-(2,4-дихлорбензилсульфамойл)феніл]-4-оксомаєляної кислоти у вигляді напівтвердої речовини (2,1 г). РХ/МС: $R_T=2,38$ хв., МС: 448 (М-Н).

Стадія 5. До суміші 4-[4-хлор-3-(2,4-дихлорбензилсульфамойл)феніл]-4-оксомаєляної кислоти (800 мг, 1,78 ммоль), моногідрату п-толуолсульфонової кислоти (520 мг, 2,7 ммоль) і хлориду цинку (370 мг, 2,7 ммоль) у льодяній оцтовій кислоті (15 мл) у мікрохвильовій посудині додають феніл гідразин (300 мг, 2,78 ммоль). Закрити посудину нагрівають у мікрохвильовій печі при температурі 180°C протягом 40 хвилин. Реакційну суміш розбавляють EtOAc, переносять у конічну колбу і додають водну 2н HCl (-50 мл). Органічний шар відділяють і водний шар екстрагують EtOAc. Об'єднану органічну фазу промивають водою, сольовим розчином, сушать над сульфатом натрію і концентрують. Осад очищують препаративним розділенням ВЕРХ (рухома фаза: ацетоні-

трил-вода з 0,1% ТФК; градієнт 10-100% протягом 10 хвилин) для одержання {2-[4-хлор-3-(2,4-дихлорбензилсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл}оцтової кислоти у вигляді твердої речовини (145 мг). РХ/МС: $R_T=2,78$ хв., МС: 523 (М+Н). ^1H ЯМР (300 МГц, DMCO-D_6) δ 3,74 (с, 2Н), 4,23 (д, J=6 Гц, 2Н), 7,06 (т, J=7 Гц, 1Н), 7,17 (т, J=7 Гц, 1Н), 7,3-7,48 (м, 4Н), 7,56 (д, J=8 Гц, 1Н), 7,75 (д, J=8,3 Гц, 1Н), 7,87 (д, J=8 Гц, 1Н), 8,22 (д, J=2 Гц, 1Н), 8,64 (т, J=6,9 Гц, 1Н), 11,52 (с, 1Н), 12,4 (уш.с, 1Н). $\text{IC}_{50}=4$ нМ.

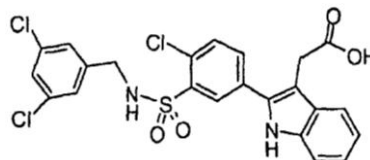
(b) {2-[4-Хлор-3-(2,6-дихлорбензилсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл}оцтова кислота



Стадія 1. Методом, аналогічним описаному у прикладі 1(а), стадія 4, але використовуючи 2,6-дихлорбензиламін (2,82 г) замість 2,4-дихлорбензиламіну, одержують 4-[4-хлор-3-(2,6-дихлорбензилсульфамойл)феніл]-4-оксомаєляну кислоту у вигляді порошку (2,12 г). РХ/МС: $R_T=2,1$ хв., МС: 448 (М+Н).

Стадія 2. Методом, аналогічним описаному на стадії 5 методу А у прикладі 1(а), але використовуючи 4-[4-хлор-3-(2,6-дихлорбензилсульфамойл)феніл]-4-оксомаєляну кислоту (0,8 г) замість 4-[4-хлор-3-(2,4-дихлорбензил-сульфамойл)феніл]-4-оксомаєляної кислоти, одержують {2-[4-хлор-3-(2,4-дихлорбензилсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл}оцтову кислоту у вигляді твердої речовини (80 мг). РХ/МС: $R_T=2,72$ хв, МС: 523 (М+Н); ^1H ЯМР (300 МГц, DMCO-D_6) δ 3,75 (с, 2Н), 4,36 (д, 2Н, J=5,2 Гц), 7,06 (т, J=7 Гц, 1Н), 7,1-7,45 (м, 5Н), 7,73 (д, J=8,5 Гц, 1Н), 7,57 (д, J=8 Гц, 1Н), 7,88 (дд, J=6 Гц, J=2,2 Гц, 1Н), 8,25 (д, J=2 Гц, 1Н), 8,33 (т, J=5 Гц, 1Н), 11,5 (с, 1Н), 12,4 (уш.с, 1Н). $\text{IC}_{50}=3$ нМ.

(c) {2-[4-Хлор-3-(3,5-дихлорбензилсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл}оцтова кислота

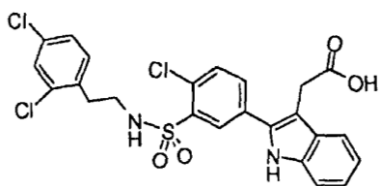


Стадія 1. Методом, аналогічним описаному на стадії 4 у прикладі 1(а), але використовуючи 3,5-дихлорбензиламін (2,82 г) замість 2,4-дихлорбензиламіну, одержують 4-[4-хлор-3-(3,5-дихлорбензилсульфамойл)феніл]-4-оксомаєляну кислоту у вигляді твердої речовини (2,12 г). РХ/МС: $R_T=2,42$ хв., МС: 450 (М+Н).

Стадія 2. Методом, аналогічним описаному на стадії 5 методу А у прикладі 1(а), але використовуючи 4-[4-хлор-3-[3,5-

дихлорбензилсульфамойл)феніл]-4-оксомасляну кислоту (0,8 г) замість 4-[4-хлор-3-(2,4-дихлорбензил-сульфамойл)феніл]-4-оксомасляної кислоти, одержують {2-[4-хлор-3-(3,5-дихлорбензилсульфамойл)феніл]-1H-індол-3-іл}оцтову кислоту у вигляді твердої речовини (160 мг). РХ/МС: $R_T=2,78$ хв., МС: 523 (М+Н). ^1H ЯМР (300 МГц, DMCO-D_6) δ 3,72 (с, 2H), 4,19 (д, $J=6,2$ Гц, 2H), 7,06 (т, $J=7$ Гц, 1H), 7,1-7,45 (м, 5H), 7,57 (д, $J=8$ Гц, 1H), 7,71 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,85 (дд, $J=6,2$ Гц, $J=2,2$ Гц, 1H), 8,19 (д, $J=2,2$ Гц, 1H), 8,65 (т, $J=6,4$ Гц, 1H), 11,5 (с, 1H), 12,4 (уш.с, 1H). $\text{IC}_{50}=12$ нМ.

(д) (2-{4-Хлор-3-[2-(2,4-дихлорфеніл)етилсульфамойл]феніл}-1H-індол-3-іл)оцтова кислота

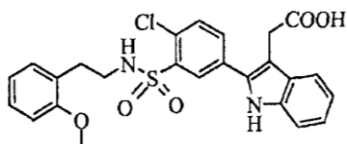


Стадія 1. Методом, аналогічним описаному на стадії 4 у прикладі 1(а), але використовуючи 2,4-дихлорфенетиламін (3,04 г) замість 2,4-дихлорбензиламіну, одержують 4-[4-хлор-3-[2-(2,4-дихлорфеніл)етилсульфамойл]феніл]-4-оксомасляну кислоту у вигляді твердої речовини (2,3 г). РХ/МС: $R_T=2,52$ хв., МС: 464 (М+Н).

Стадія 2. Методом, аналогічним описаному на стадії 5 методу А у прикладі 1(а), але використовуючи 4-[4-хлор-3-[2-(2,4-дихлорфеніл)етилсульфамойл]феніл]-4-оксомасляну кислоту (0,83 г) замість 4-[4-хлор-3-(2,4-дихлорбензил-сульфамойл)феніл]-4-оксомасляної кислоти, одержують (2-{4-хлор-3-[2-(2,4-дихлорфеніл)етилсульфамойл]феніл}-1H-індол-3-іл)оцтову кислоту (150 мг). РХ/МС: $R_T=2,64$ хв., МС: 537 (М+Н). ^1H ЯМР (300 МГц, DMCO-D_6) δ 2,81 (т, $J=7$ Гц, 2H), 3,2 (м, 2H), 3,75 (с, 2H), 7,06 (т, $J=7,2$ Гц, 1H), 7,16 (т, $J=7,3$ Гц, 1H), 7,29 (с, 2H), 7,43 (м, 2H), 7,56 (д, $J=7,7$ Гц, 1H), 7,74 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,9 (дд, $J=6,3$ Гц, $J=2,2$ Гц, 1H), 8,13 (т, $J=5,7$ Гц, 1H), 8,23 (д, $J=2,2$ Гц, 1H), 11,52 (с, 1H), 12,4 (уш.с, 1H). $\text{IC}_{50}=2$ нМ.

Приклад 2

(а) (2-{4-Хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл}-1H-індол-3-іл)оцтова кислота



Стадія 1. Суміш 2-хлорнітробензолу (53 г, 0,34 моль), заліза (1,5 г) і бромі (23 мл, 0,45 моль) перемішують при нагріванні зі зворотним холодильником у потоці N_2 протягом 20 годин. Реакційну суміш концентрують і залишок чистять флеш-хроматографією на силікагелі з елюванням 10%

EtOAc-гептан. Потрібні фракції концентрують, фільтрують і промивають етанолом, а потім сушать. Проводять перекристалізацію твердого залишку з етанолу для одержання 5-бром-2-хлорнітробензолу (37,9 г). Після зберігання маточних розчинів протягом ночі при 0°C виділяють другу порцію продукту і сушать її для одержання додаткової кількості 5-бром-2-хлорнітробензолу (7 г). МС: 235 (М+Н); т. пл. $65-67^\circ\text{C}$.

Стадія 2. Розчин 5-бром-2-хлорнітробензолу (10,3 г, 43,6 ммоль) в EtOAc (200 мл) піддають гідрогенізації на нікелі Ренея (6 г 50% в H_2O) під 55 фунтів на кв. дюйм H_2 протягом 5 годин. Суміш фільтрують через шар целіту і промивають EtOAc. Фільтрат обробляють ефірною HCl (60 мл, 1М розчин в Et_2O) у потоці N_2 . Одержану суспензію перемішують протягом 1 години і додають Et_2O (100-200 мл). Суміш фільтрують для одержання 5-бром-2-хлоранілін гідрохлориду (4,85 г) у вигляді твердої речовини. МС: 205 (М+Н); т. пл. $152-155^\circ\text{C}$.

Стадія 3. Суспензію 5-бром-2-хлоранілін гідрохлориду (41,4 г, 0,17 моль) в CH_3CN (380 мл) охолоджують до 5°C і протягом 10 хвилин підливають концентровану HCl (277 мл). Суспензію охолоджують до -5°C і по краплях протягом 10-15 хвилин підливають розчин NaNO_2 (14,2 г, 0,21 моль) в H_2O (40 мл). Суміш перемішують ще 5 хвилин і додають 30% (ваг./ваг.) SO_2 в HOAc (435 мл) при 0°C , а потім підливають розчин дигідрату хлориду міді(II) (15,3 г, 0,09 моль) в H_2O (40 мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 1,5 години. Реакційну суміш фільтрують і твердий залишок сушать для одержання 5-бром-2-хлорбензолсульфонілхлориду (18,4 г). Фільтрат зберігають при 0°C протягом 18 годин. Осад збирають і сушать для одержання додаткової кількості 5-бром-2-хлорбензолсульфонілхлориду (9,6 г). МС: 288 (М+Н).

Стадія 4. 5-бром-2-хлорбензолсульфонілхлорид (2 г, 6,9 ммоль) повільно додають у розчин 2-(2-метоксифеніл)етиламіну (1,6 г, 10,74 ммоль) і DIEA (2,3 г, 17,8 ммоль) у DCM:MeOH (1:1, 50 мл) при 0°C . Одержану суміш нагрівають до кімнатної температури і перемішують протягом 20 годин. Реакційну суміш підкислюють водним 2N розчином HCl (~25 мл), а потім двічі екстрагують з DCM (~50 мл). Органічний шар промивають водою, сольовим розчином, сушать над сульфатом натрію і випарюють у вакуумі для одержання 5-бром-2-хлор-N-[2-(2-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамід (2,23 г) у вигляді білого порошку. РХ/МС: $R_T=2,78$ хв., МС: 403 (М+Н).

Стадія 5. До розчину 1-(трет-бутоксикарбоніл)-5-метоксі-1H-індол-2-ілборонової кислоти (2,2 г, 7,5 ммоль), 5-бром-2-хлор-N-[2-(2-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамід (2 г, 5 ммоль) і CsF (1,14 г, 7,5 ммоль) у діоксан- H_2O (100 мл, 9:1) додають $\text{PdCl}_2(\text{dppf})_2$ (400 мг) при кімнатній температурі у потоці N_2 . Реакційну суміш нагрівають до 80°C і перемішують протягом 2 годин. Реакційну суміш концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і фільтрують через коротку колонку з силікагелем. Фільтрат концентрують у вакуумі і залишок очищують флеш-хроматографією на си-

лікагелі, елюючи від 3% до 30% EtOAc у гептані для одержання трет-бутилового ефіру 2-(4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл)-індол-1-карбонової кислоти (1,9 г). РХ/МС: $R_T=3,4$ хв, МС: 541 (М+Н).

Стадія 6. Суміш трет-бутилового ефіру 2-(4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл)-індол-1-карбонової кислоти (1,2 г, 2,2 ммоль) і TFA:DCM (1:1, 20 мл) перемішують протягом 3 годин при кімнатній температурі у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають у насиченому водному розчині NaHCO_3 , воді і сольовому розчині. Органічну фазу відділяють, сушать над Na_2SO_4 і концентрують. Залишок очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи від 5% до 40% EtOAc у гептані для одержання 2-хлор-5-(1H-індол-2-іл)-N-[2-(2-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамід у вигляді порошку (980 мг). РХ/МС: $R_T=3$ хв., МС: 441 (М+Н).

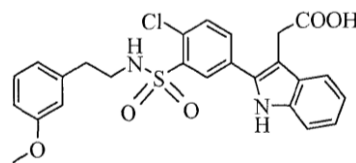
Стадія 7. Оксалілхлорид (2М у DCM, 2 мл) повільно додають до розчину 2-хлор-5-(1H-індол-2-іл)-N-[2-(2-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамід (600 мг, 1,36 ммоль) у DCM (15 мл) при 0°C. Реакційну суміш доводять до кімнатної температури. Після перемішування протягом 3 годин додають MeOH (5 мл) і перемішують протягом ще 10 хвилин. Суміш концентрують. Залишок очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 10%-50% EtOAc у гептані для одержання метилового ефіру (2-(4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл)-1H-індол-3-іл)оксооцтової кислоти у вигляді напівтвердої речовини (540 мг). РХ/МС: $R_T=2,72$ хв., МС: 527 (М+Н).

Стадія 8. Триетилсилан (0,5 мл) повільно додають до розчину метилового ефіру (2-(4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл)-1H-індол-3-іл)оксооцтової кислоти (500 мг, 0,95 ммоль) у TFA (5 мл) при кімнатній температурі. Після перемішування протягом 16 годин реакційну суміш концентрують у вакуумі. Залишок очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 10%-40% EtOAc у гептані для одержання метилового ефіру (2-(4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл)-1H-індол-3-іл)оксооцтової кислоти у вигляді напівтвердої речовини (440 мг). РХ/МС: $R_T=2,88$ хв., МС: 513 (М+Н); ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 2,81 (т, $J=6,8$ Гц, 2H), 3,23 (кв, $J=12,6$ Гц, $J=6,6$ Гц, 2H), 3,72 (с, 3H), 3,73 (с, 3H), 3,81 (с, 2H), 5,24 (т, $J=5,7$ Гц, 1H), 6,82 (м, 2H), 7,02 (д, $J=7,3$ Гц, 1H), 7,2 (м, 3H), 7,4 (д, $J=7,9$ Гц, 1H), 7,53 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,67 (д, $J=7,7$ Гц, 1H), 7,86 (дд, $J=6,1$ Гц, 2,2 Гц, 1H), 8,3 (д, $J=2,2$ Гц, 1H), 8,5 (с, 1H).

Стадія 9. До розчину метилового ефіру (2-(4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл)-1H-індол-3-іл)оксооцтової кислоти (400 мг, 0,8 ммоль) у $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (2:1, 20 мл) додають моногідрат гідроксиду літію (200 мг, 4,8 ммоль). Реакційну суміш перемішують при температурі 80°C протягом 3 годин і концентрують. Осад підкислюють водним 2N розчином HCl (pH ~2 мл), а потім двічі екстрагують з етилацетатом. Об'єднану органічну фазу промивають водою,

сольовим розчином, сушать над сульфатом натрію і випарюють у вакуумі. Залишок очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 20%-60% EtOAc у гептані для одержання (2-(4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл)-1H-індол-3-іл)оксооцтової кислоти у вигляді порошку (310 мг). РХ/МС: $R_T=2,57$ хв, МС: 497 (М-Н); ^1H ЯМР (300 МГц, DMCO-D_6) δ 2,67 (т, $J=8$ Гц, 2H), 3,1 (м, 2H), 3,62 (с, 3H), 3,75 (с, 2H), 6,82 (м, 2H), 7,02-7,2 (м, 4H), 7,41 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 7,56 (д, $J=7,9$ Гц, 1H), 7,78 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,91 (дд, $J=6,3$ Гц, 2,2 Гц, 1H), 8,01 (т, $J=5,7$ Гц, 1H), 8,25 (д, $J=2,2$ Гц, 1H), 11,55 (с, 1H), 12,42 (с, 1H). $\text{IC}_{50}=3,8$ нМ.

(b) (2-(4-Хлор-3-[2-(3-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл)-1H-індол-3-іл)оксооцтова кислота



Стадія 1. Методом, аналогічним описаному на стадії 4 у прикладі 2(a), але використовуючи 2-(3-метоксифеніл)етиламін замість 2-(2-метоксифеніл)етиламіну, одержують 5-бром-2-хлор-N-[2-(3-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамід у вигляді твердої речовини (2,2 г). РХ/МС: $R_T=2,71$ хв., МС: 402 (М-Н).

Стадія 2. Методом, аналогічним описаному на стадії 5 у прикладі 2(a), але використовуючи 5-бром-2-хлор-N-[2-(3-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамід замість 5-бром-2-хлор-N-[2-(2-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамід, одержують трет-бутиловий ефір 2-(4-хлор-3-[2-(3-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл)-індол-1-карбонової кислоти у вигляді масла (1,69 г). РХ/МС: $R_T=3,34$ хв., МС: 541 (М+Н).

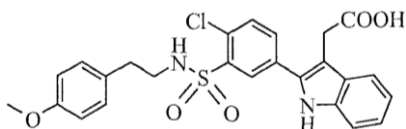
Стадія 3. Методом, аналогічним описаному на стадії 6 у прикладі 2(a), але використовуючи трет-бутиловий ефір 2-(4-хлор-3-[2-(3-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл)-індол-1-карбонової кислоти замість трет-бутилового ефіру 2-(4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл)-індол-1-карбонової кислоти, одержують 2-хлор-5-(1H-індол-2-іл)-N-[2-(3-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамід у вигляді твердої речовини (960 мг). РХ/МС: $R_T=2,92$ хв., МС: 441 (М+Н).

Стадія 4. Методом, аналогічним описаному на стадії 7 у прикладі 2(a), але використовуючи 2-хлор-5-(1H-індол-2-іл)-N-[2-(3-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамід замість 2-хлор-5-(1H-індол-2-іл)-N-[2-(2-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамід, одержують метиловий ефір (2-(4-хлор-3-[2-(3-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл)-1H-індол-3-іл)оксооцтової кислоти у вигляді напівтвердої речовини (551 мг). РХ/МС: $R_T=2,66$ хв., МС: 527 (М+Н).

Стадія 5. Методом, аналогічним описаному на стадії 8 у прикладі 2(а), але використовуючи метиловий ефір (2-{4-хлор-3-[2-(3-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл}-1Н-індол-3-іл)оксооцтової кислоти замість метилового ефіру (2-{4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл}-1Н-індол-3-іл)оксооцтової кислоти, одержують метиловий ефір (2-{4-хлор-3-[2-(3-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл}-1Н-індол-3-іл)оцтової кислоти (450 мг). РХ/МС: $R_T=2,82$ хв., МС: 513 (М+Н). ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 2,78 (т, J=6,8 Гц, 2Н), 3,27 (кв, J=13 Гц, J=6,6 Гц, 2Н), 3,73 (с, 3Н), 3,75 (с, 3Н), 3,81 (с, 2Н), 5,07 (т, J=6 Гц, 1Н), 6,7 (м, 3Н), 7,2 (м, 3Н), 7,4 (д, J=8,1 Гц, 1Н), 7,55 (д, J=8,1 Гц, 1Н), 7,68 (д, J=7,9 Гц, 1Н), 7,86 (дд, J=6,1 Гц, 2,2 Гц, 1Н), 8,3 (д, J=2,2 Гц, 1Н), 8,47 (с, 1Н).

Стадія 6. Методом, аналогічним описаному на стадії 9 у прикладі 2(а), але використовуючи метиловий ефір (2-{4-хлор-3-[2-(3-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл}-1Н-індол-3-іл)оцтової кислоти замість метилового ефіру (2-{4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл}-1Н-індол-3-іл)оцтової кислоти, одержують (2-{4-хлор-3-[2-(3-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл}-1Н-індол-3-іл)оцтову кислоту у вигляді твердої речовини (320 мг). РХ/МС: $R_T=2,5$ хв., МС: 497 (М-Н). ^1H ЯМР (300 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 2,69 (т, J=7,2 Гц, 2Н), 3,18 (м, 2Н), 3,67 (с, 3Н), 3,75 (с, 2Н), 6,7 (т, J=6,5 Гц, 3Н), 7,12 (м, 3Н), 7,41 (д, J=8,1 Гц, 1Н), 7,57 (д, J=7,9 Гц, 1Н), 7,76 (д, J=8,2 Гц, 1Н), 7,9 (дд, J=6,2 Гц, 2,1 Гц, 1Н), 8,04 (уш.т, 1Н), 8,25 (д, J=2,1 Гц, 1Н), 11,55 (с, 1Н), 12,45 (уш.с, 1Н). $\text{IC}_{50}=3,3$ нМ.

(с) (2-{4-Хлор-3-[2-(4-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл}-1Н-індол-3-іл)оцтова кислота



Стадія 1. Методом, аналогічним описаному на стадії 4 у прикладі 2(а), але використовуючи 2-(4-метоксифеніл)етиламін замість 2-(2-метоксифеніл)етиламіну, одержують 5-бром-2-хлор-N-[2-(4-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамід у вигляді напівтвердої речовини (2,3 г). РХ/МС: $R_T=2,71$ хв., МС: 402 (М-Н).

Стадія 2. Методом, аналогічним описаному на стадії 5 у прикладі 2(а), але використовуючи 5-бром-2-хлор-N-[2-(4-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамід замість 5-бром-2-хлор-N-[2-(2-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамиду, одержують трет-бутиловий ефір 2-{4-хлор-3-[2-(4-метоксифеніл)етил-сульфамойл]феніл}індол-1-карбонової кислоти у вигляді масла (1,87 г). РХ/МС: $R_T=3,33$ хв., МС: 541(М+Н).

Стадія 3. Методом, аналогічним описаному на стадії 6 у прикладі 2(а), але використовуючи трет-бутиловий ефір 2-{4-хлор-3-[2-(4-метоксифеніл)етил-сульфамойл]феніл}індол-1-

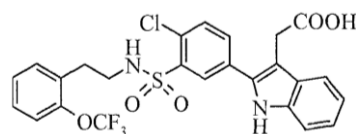
карбонової кислоти замість трет-бутилового ефіру 2-{4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл}індол-1-карбонової кислоти, одержують 2-хлор-5-(1Н-індол-2-іл)-N-[2-(4-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамід у вигляді твердої речовини (950 мг). РХ/МС: $R_T=2,91$ хв., МС: 441 (М+Н).

Стадія 4. Методом, аналогічним описаному на стадії 7 у прикладі 2(а), але використовуючи 2-хлор-5-(1Н-індол-2-іл)-N-[2-(4-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамід замість 2-хлор-5-(1Н-індол-2-іл)-N-[2-(2-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамиду, одержують метиловий ефір (2-{4-хлор-3-[2-(4-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл}-1Н-індол-3-іл)оксооцтової кислоти у вигляді напівтвердої речовини (552 мг). РХ/МС: $R_T=2,66$ хв., МС: 527 (М+Н).

Стадія 5. Методом, аналогічним описаному на стадії 8 у прикладі 2(а), але використовуючи метиловий ефір (2-{4-хлор-3-[2-(4-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл}-1Н-індол-3-іл)оксооцтової кислоти замість метилового ефіру (2-{4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл}-1Н-індол-3-іл)оксооцтової кислоти, одержують метиловий ефір (2-{4-хлор-3-[2-(4-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл}-1Н-індол-3-іл)оцтової кислоти (445 мг). РХ/МС: $R_T=2,81$ хв., МС: 513 (М+Н); ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 2,76 (т, J=6,6 Гц, 2Н), 3,23 (м, 2Н), 3,73 (с, 2Н), 3,77 (с, 3Н), 3,82 (с, 2Н), 5 (т, J=6,1 Гц, 1Н), 6,78 (дд, J=5 Гц, 2 Гц, 2Н), 7,02 (дд, J=6,6 Гц, 2 Гц, 2Н), 7,26 (м, 3Н), 7,41 (д, J=8,3 Гц, 1Н), 7,58 (д, J=8,3 Гц, 1Н), 7,69 (д, J=7,9 Гц, 1Н), 7,88 (дд, J=6,0 Гц, 2,2 Гц, 1Н), 8,3 (д, J=2,2 Гц, 1Н), 8,33 (с, 1Н).

Стадія 6. Методом, аналогічним описаному на стадії 9 у прикладі 2(а), але використовуючи метиловий ефір (2-{4-хлор-3-[2-(4-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл}-1Н-індол-3-іл)оцтової кислоти замість метилового ефіру (2-{4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл}-1Н-індол-3-іл)оцтову кислоту у вигляді твердої речовини (295 мг). РХ/МС: $R_T=2,51$ хв., МС: 497 (М-Н). ^1H ЯМР (300 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 2,64 (т, J=7,4 Гц, 2Н), 3,11 (м, 2Н), 3,67 (с, 3Н), 3,75 (с, 2Н), 6,75 (д, J=8,6 Гц, 2Н), 7,05 (м, 3Н), 7,17 (т, J=7,3 Гц, 1Н), 7,41 (д, J=8,1 Гц, 1Н), 7,58 (д, J=7,9 Гц, 1Н), 7,76 (д, J=8,2 Гц, 1Н), 7,9 (дд, J=6,3 Гц, 2 Гц, 1Н), 8,01 (уш.с, 1Н), 8,23 (д, J=2 Гц, 1Н), 11,54 (с, 1Н), 12,42 (уш.с, 1Н). $\text{IC}_{50}=3$ нМ.

(d) (2-{4-Хлор-3-[2-(2-трифторметоксифеніл)етилсульфамойл]феніл}-1Н-індол-3-іл)оцтова кислота



Стадія 1. Методом, аналогічним описаному на стадії 4 у прикладі 2(а), але використовуючи 2-(2-

трифторметоксифеніл)етиламін (2,2 г) замість 2-(2-метоксифеніл)етиламіну, одержують 5-бром-2-хлор-N-[2-(2-трифторметоксифеніл)етил]бензолсульфонамід у вигляді твердої речовини (2,4 г). PX/MC: $R_T=2,96$ хв, MC: 455,9 (M-H).

Стадія 2. Методом, аналогічним описаному на стадії 5 у прикладі 2(а), але використовуючи 5-бром-2-хлор-N-[2-(2-трифторметоксифеніл)етил]бензолсульфонамід (2,3 г) замість 5-бром-2-хлор-N-[2-(2-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамід, одержують трет-бутиловий ефір 2-{4-хлор-3-[2-(2-трифторметоксифеніл)етилсульфамоїл]феніл}індол-1-карбонової кислоти у вигляді твердої речовини (2,05 г). PX/MC: $R_T=3,49$ хв, MC: 595 (M+H).

Стадія 3. Методом, аналогічним описаному на стадії 6 у прикладі 2(а), але використовуючи трет-бутиловий ефір 2-{4-хлор-3-[2-(2-трифторметоксифеніл)етилсульфамоїл]феніл}індол-1-карбонової кислоти замість трет-бутилового ефіру 2-{4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамоїл]феніл}індол-1-карбонової кислоти, одержують 2-хлор-5-(1H-індол-2-іл)-N-[2-(2-трифторметоксифеніл)етил]бензолсульфонамід у вигляді порошку (985 мг). PX/MC: $R_T=3,1$ хв, MC: 493 (M-H).

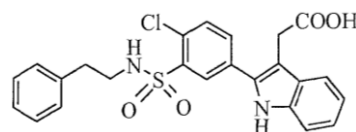
Стадія 4. Методом, аналогічним описаному на стадії 7 у прикладі 2(а), але використовуючи 2-хлор-5-(1H-індол-2-іл)-N-[2-(2-трифторметоксифеніл)етил]бензолсульфонамід замість 2-хлор-5-(1H-індол-2-іл)-N-[2-(2-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамід, одержують метиловий ефір 2-{4-хлор-3-[2-(2-трифторметоксифеніл)етилсульфамоїл]феніл}-1H-індол-3-ілоксоецтової кислоти у вигляді твердої речовини (575 мг). PX/MC: $R_T=2,84$ хв, MC: 581 (M+H).

Стадія 5. Методом, аналогічним описаному на стадії 8 у прикладі 2(а), але використовуючи метиловий ефір 2-{4-хлор-3-[2-(2-трифторметоксифеніл)етилсульфамоїл]феніл}-1H-індол-3-ілоксоецтової кислоти замість метилового ефіру 2-{4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамоїл]феніл}-1H-індол-3-ілоксоецтової кислоти, одержують метиловий ефір 2-{4-хлор-3-[2-(2-трифторметоксифеніл)етилсульфамоїл]феніл}-1H-індол-3-ілоксоецтової кислоти у вигляді порошку (470 мг). PX/MC: $R_T=3$ хв, MC: 567 (M+H). ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 2,91 (т, J=7 Гц, 2H), 3,27 (кв, J=13,4 Гц, J=6,8 Гц, 2H), 3,73 (с, 3H), 3,81 (с, 2H), 5,07 (т, J=6 Гц, 1H), 7,25 (м, 6H), 7,41 (д, J=7,9 Гц, 1H), 7,59 (д, J=8,2 Гц, 1H), 7,7 (д, J=7,59 Гц, 1H), 7,91 (дд, J=6,1 Гц, 2,2 Гц, 1H), 8,28 (с, 1H), 8,33 (д, J=2,2 Гц, 1H).

Стадія 6. Методом, аналогічним описаному на стадії 9 у прикладі 2(а), але використовуючи метиловий ефір 2-{4-хлор-3-[2-(2-трифторметоксифеніл)етилсульфамоїл]феніл}-1H-індол-3-ілоксоецтової кислоти замість метилового ефіру 2-{4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамоїл]феніл}-1H-індол-3-

ілоксоецтової кислоти, одержують 2-{4-хлор-3-[2-(2-трифторметоксифеніл)етилсульфамоїл]феніл}-1H-індол-3-ілоксоецтову кислоту у вигляді порошку (340 мг). PX/MC: $R_T=2,69$ хв, MC: 551 (M-H). ^1H ЯМР (300 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 2,8 (т, J=7 Гц, 2H), 3,17 (кв, J=13,4 Гц, J=6,4 Гц, 2H), 3,74 (с, 2H), 7,06 (т, J=7,5 Гц, 1H), 7,17 (7,35 (м, 5H), 7,41 (д, J=7,9 Гц, 1H), 7,57 (д, J=7,9 Гц, 1H), 7,79 (д, J=8,5 Гц, 2,1 Гц, 1H), 7,91 (дд, J=6,2 Гц, 2,1 Гц, 1H), 8,17 (т, J=5,6 Гц, 1H), 8,24 (д, J=2 Гц, 1H), 11,57 (с, 1H), 12,42 (уш.с, 1H). $\text{IC}_{50}=20$ нМ.

(е) [2-(4-Хлор-3-фенетилсульфамоїлфеніл)-1H-індол-3-іл]оцтова кислота



Стадія 1. Методом, аналогічним описаному на стадії 4 у прикладі 2(а), але використовуючи фенетиламін (1,3 г) замість 2-(2-метоксифеніл)етиламіну, одержують 5-бром-2-хлор-N-фенетилбензолсульфонамід (2,1 г) у вигляді твердої речовини. PX/MC: $R_T=2,71$ хв, MC: 402 (M-H).

Стадія 2. Методом, аналогічним описаному на стадії 5 у прикладі 2(а), але використовуючи 5-бром-2-хлор-N-фенетилбензолсульфонамід (1,9 г) замість 5-бром-2-хлор-N-[2-(2-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамід, одержують трет-бутиловий ефір 2-(4-хлор-3-фенетилсульфамоїлфеніл)індол-1-карбонової кислоти (1,69 г). PX/MC: $R_T=3,38$ хв, MC: 511 (M+H).

Стадія 3. Методом, аналогічним описаному на стадії 6 у прикладі 2(а), але використовуючи трет-бутиловий ефір 2-(4-хлор-3-фенетилсульфамоїлфеніл)індол-1-карбонової кислоти замість трет-бутилового ефіру 2-{4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамоїл]феніл}індол-1-карбонової кислоти, одержують 2-хлор-5-(1H-індол-2-іл)-N-фенетилбензолсульфонамід у вигляді твердої речовини (900 мг). PX/MC: $R_T=2,96$ хв, MC: 411 (M+H).

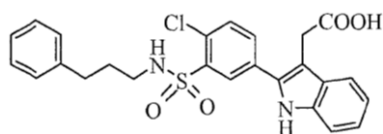
Стадія 4. Методом, аналогічним описаному на стадії 7 у прикладі 2(а), але використовуючи 2-хлор-5-(1H-індол-2-іл)-N-фенетилбензолсульфонамід замість 2-хлор-5-(1H-індол-2-іл)-N-[2-(2-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамід, одержують метиловий ефір 2-(4-хлор-3-фенетилсульфамоїлфеніл)-1H-індол-3-ілоксоецтової кислоти у вигляді напівтвердої речовини (542 мг). PX/MC: $R_T=2,68$ хв, MC: 497 (M+H).

Стадія 5. Методом, аналогічним описаному на стадії 8 у прикладі 2(а), але використовуючи метиловий ефір 2-(4-хлор-3-фенетилсульфамоїлфеніл)-1H-індол-3-ілоксоецтової кислоти замість метилового ефіру 2-{4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамоїл]феніл}-1H-індол-3-ілоксоецтової кислоти, одержують метиловий ефір [2-(4-хлор-3-фенетилсульфамоїлфеніл)-1H-індол-3-ілоксоецтової кислоти]

індол-3-іл)оцтової кислоти у вигляді твердої речовини (410 мг). РХ/МС: $R_T=2,84$ хв, МС: 483 (М+Н); ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-D_6) δ 2,72 (т, $J=7,5$ Гц, 2H), 3,15 (кв, $J=13,4$ Гц, $J=6,5$ Гц, 2H), 3,61 (с, 3H), 3,86 (с, 2H), 7,15 (м, 7H), 7,41 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 7,55 (д, $J=7,9$ Гц, 1H), 7,77 (д, $J=8,3$ Гц, 1H), 7,87 (дд, $J=6,2$ Гц, 2 Гц, 1H), 8,08 (т, $J=5,5$ Гц, 1H), 8,2 (д, $J=2$ Гц, 1H), 11,6 (с, 1H).

Стадія 6. Методом, аналогічним описаному на стадії 9 у прикладі 2(а), але використовуючи метиловий ефір [2-(4-хлор-3-фенетилсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл)оцтової кислоти замість метилового ефіру (2-(4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл)-1Н-індол-3-іл)оцтової кислоти, одержують [2-(4-хлор-3-фенетилсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл)оцтову кислоту (280 мг). РХ/МС: $R_T=2,53$ хв., МС: 467 (М-Н); ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-D_6) δ 2,72 (т, $J=7,4$ Гц, 2H), 3,15 (м, 2H), 3,75 (с, 2H), 7,15 (м, 7H), 7,41 (д, $J=7,8$ Гц, 1H), 7,57 (д, $J=7,8$ Гц, 1H), 7,77 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,89 (дд, $J=6,3$ Гц, 2 Гц, 1H), 8,06 (т, $J=5,7$ Гц, 1H), 8,24 (д, $J=2$ Гц, 1H), 11,55 (с, 1H), 12,45 (у.с., 1H).

(f) {2-[4-Хлор-3-(3-фенілпропілсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл)оцтова кислота



Стадія 1. Методом, аналогічним описаному на стадії 4 у прикладі 1, але використовуючи 3-фенілпропіламін (1,4 г) замість 2-(2-метоксифеніл)етиламіну, одержують 5-бром-2-хлор-N-(3-фенілпропіл)бензолсульфонамід (2 г) у вигляді напівтвердої речовини. РХ/МС: $R_T=2,86$ хв., МС: 386 (М-Н).

Стадія 2. Методом, аналогічним описаному на стадії 5 у прикладі 2(а), але використовуючи бром-2-хлор-N-(3-фенілпропіл)бензолсульфонамід (1,9 г) замість 5-бром-2-хлор-N-[2-(2-метоксифеніл)етил]бензолсульфонамиду, одержують трет-бутиловий ефір 2-[4-хлор-3-(3-фенілпропілсульфамойл)феніл]індол-1-карбонової кислоти у вигляді твердої речовини (1,73 г). РХ/МС: $R_T=3,43$ хв., МС: 525 (М+Н).

Стадія 3. Методом, аналогічним описаному на стадії 6 у прикладі 2(а), але використовуючи трет-бутиловий ефір 2-[4-хлор-3-(3-фенілпропілсульфамойл)феніл]індол-1-карбонової кислоти замість трет-бутилового ефіру 2-[4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл]індол-1-карбонової кислоти, одержують 2-хлор-5-(1Н-індол-2-іл)-N-(3-фенілпропіл)бензолсульфонамід у вигляді порошку (950 мг). РХ/МС: $R_T=3,03$ хв., МС: 425 (М+Н).

Стадія 4. Методом, аналогічним описаному на стадії 7 у прикладі 2(а), але використовуючи 2-хлор-5-(1Н-індол-2-іл)-N-(3-фенілпропіл)бензолсульфонамід замість 2-хлор-5-(1Н-індол-2-іл)-N-[2-(2-

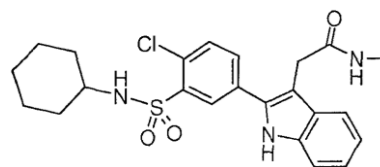
метоксифеніл)етил]бензолсульфонамиду, одержують метиловий ефір {2-[4-хлор-3-(3-фенілпропілсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл)оксооцтової кислоти у вигляді напівтвердої речовини (540 мг). РХ/МС: $R_T=2,76$ хв., МС: 511 (М+Н).

Стадія 5. Методом, аналогічним описаному на стадії 8 у прикладі 2(а), але використовуючи метиловий ефір {2-[4-хлор-3-(3-фенілпропілсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл)оксооцтової кислоти замість метилового ефіру (2-(4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл)-1Н-індол-3-іл)оксооцтової кислоти, одержують метиловий ефір {2-[4-хлор-3-(3-фенілпропілсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл)оцтової кислоти (430 мг). РХ/МС: $R_T=2,92$ хв., МС: 497 (М+Н); ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 1,82 (м, 2H), 2,62 (т, $J=7,5$ Гц, 2H), 3 (м, 2H), 3,72 (с, 3H), 3,8 (с, 2H), 5,13 (т, $J=6$ Гц, 1H), 7,07-7,28 (м, 7H), 7,39 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 7,6 (д, $J=8,3$ Гц, 1H), 7,68 (д, $J=7,9$ Гц, 1H), 7,89 (дд, $J=6,1$ Гц, 2,2 Гц, 1H), 8,08 (т, 5,5 Гц, 1H), 8,31 (д, $J=2$ Гц, 1H).

Стадія 6. Методом, аналогічним описаному на стадії 9 у прикладі 2(а), але використовуючи метиловий ефір {2-[4-хлор-3-(3-фенілпропілсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл)оцтової кислоти замість метилового ефіру (2-(4-хлор-3-[2-(2-метоксифеніл)етилсульфамойл]феніл)-1Н-індол-3-іл)оцтової кислоти, одержують {2-[4-хлор-3-(3-фенілпропілсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл)оцтову кислоту у вигляді порошку (300 мг). РХ/МС: $R_T=2,61$ хв., МС: 481 (М-Н); ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-D_6) δ 1,67 (м, 2H), 2,5 (м, 2H, приховане піком DMSO), 2,93 (м, 2H), 3,73 (с, 2H), 7,7,3 (м, 7H), 7,41 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 7,57 (д, $J=7,8$ Гц, 1H), 7,83 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,93 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 8,04 (очевидно с, 1H), 8,26 (с, 1H), 11,6 (с, 1H), 12,45 (у.с., 1H). $\text{IC}_{50}=7$ нМ.

Приклад 3

2-[2-(4-Хлор-3-циклогексилсульфамойл)феніл]-1Н-індол-3-іл]-N-метилацетамід



Стадія 1. 5-бром-2-хлорбензолсульфонілхлорид (4 г, 13,8 ммоль) повільно додають до розчину циклогексиламіну (3,5 г, 35 ммоль) у DCM:MeOH (1:1, 100 мл) при температурі 0°C . Одержану суміш нагрівають до кімнатної температури і перемішують протягом 20 годин. Реакційну суміш підкислюють водним 2 N розчином HCl (~100 мл), а потім двічі екстрагують DCM (~150 мл). Органічний шар промивають водою (~100 мл), насиченим сольовим розчином (~50 мл), сушать над сульфатом натрію і випарюють у вакуумі для одержання 5-бром-2-хлор-N-циклогексилбензолсульфонамиду (4,2 г). РХ/МС: $R_T=3$ хв., МС: 351 (М-Н).

Стадія 2. До розчину 1-(трет-бутоксикарбоніл)-1Н-індол-2-ілборонової кислоти (2,2 г), 5-бром-2-хлор-N-циклогексилбензолсульфонаміду (1,8 г) і CsF (1,4 г) в 1,4-діоксан-H₂O (60 мл, 10:1) додають PdCl₂(dppf)₂ (375 мг) при кімнатній температурі у потоці азоту. Реакційну суміш нагрівають до 80°C і перемішують протягом 3 годин. Реакційну суміш концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і фільтрують через коротку колонку з силікагелем. Фільтрат концентрують у вакуумі і очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи від 5% до 50% EtOAc у гептані для одержання трет-бутилового ефіру 2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)індол-1-карбонової кислоти (1,9 г). РХ/МС: R_T=3,31 хв., МС: 489 (М+Н).

Стадія 3. Суміш трифтороцтової кислоти (10 мл) і дихлорметану (10 мл) додають до трет-бутилового ефіру 2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)індол-1-карбонової кислоти (1,9 г). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 2 годин. Суміш концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають у насиченому водному розчині NaHCO₃, воді і сольовому розчині. Органічну фазу відділяють, сушать над сульфатом натрію і концентрують для одержання 2-хлор-N-циклогексил-5-(5-метоксі-1Н-індол-2-іл)бензолсульфонаміду (1,4 г). РХ/МС: R_T=3,17 хв., МС: 389 (М+Н).

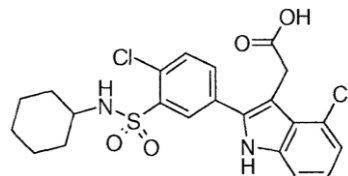
Стадія 4. Оксалілхлорид (1,7 мл 2М розчину у дихлорметані) повільно додають до розчину 2-хлор-N-циклогексил-5-(1Н-індол-2-іл)бензолсульфонаміду (300 мг, 0,77 ммоль) у DCM (6 мл) при температурі 0°C. Реакційну суміш доводять до кімнатної температури і перемішують протягом 3 годин. Додають метиламін у THF (7 мл 2М розчину) і перемішують протягом 15 хв. Суміш концентрують і залишок очищають методом хроматографії на силікагелі, елюючи 30-70% EtOAc/гептану для одержання 2-[2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1Н-індол-3-іл]-N-метил-2-оксоацетаміду у вигляді порошку (285 мг). РХ/МС: R_T=2,22 хв., МС: 474 (М+Н); ¹Н ЯМР (300 МГц, DMSO-D₆) δ 0,9-1,7 (серії м, 10Н), 2,36 (д, J=4,7 Гц, 3Н), 3,02 (м, 1Н), 7,3 (м, 2Н), 7,52 (д, J=8 Гц, 1Н), 7,76 (м, 2Н), 7,99 (д, J=8 Гц, 1Н), 8,06 (дд, J=5 Гц, J=1,8 Гц, 1Н), 8,15 (д, J=1,8 Гц, 1Н), 8,49 (д, J=4,8 Гц, 1Н), 12,65 (с, 1Н).

Стадія 5. Триетилсилан (1 мл) повільно додають до розчину 2-[2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1Н-індол-3-іл]-N-метил-2-оксоацетаміду (150 мг; 0,32 ммоль) у TFA (4 мл) при кімнатній температурі. Після перемішування протягом -72 годин реакційну суміш концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають у насиченому водному розчині NaHCO₃, воді, сушать над Na₂SO₄ і концентрують. Залишок очищають препаративним розділенням ВЕРХ (рухома фаза: ацетонітрил-вода з 0,1% TFA; градієнт 10-100% протягом 10 хв.) для одержання 2-[2-(4-хлор-3-циклогексидсульфамойлфеніл)-1Н-індол-3-іл]-N-метилацетаміду у вигляді напівтвердої речовини (110 мг). РХ/МС: R_T=2,6 хв., МС: 460 (М+Н); ¹Н ЯМР (300 МГц, DMSO-D₆) δ 0,9-1,7 (м, 10Н), 2,6 (д, J=4,6 Гц, 3Н), 3,04 (м, 1Н), 3,6 (с, 2Н), 7,03 (т, J=7,4 Гц, 1Н), 7,16 (т, J=7,4 Гц, 1Н), 7,4 (д,

J=8 Гц, 1Н), 7,6 (д, J=7,9 Гц, 1Н), 7,76 (д, J=8,4 Гц, 1Н), 7,89 (д, J=8,3 Гц, 1Н), 8,01 (д, J=4,6 Гц, 1Н), 8,14 (дд, J=6 Гц, J=2,2 Гц, 1Н), 8,33 (д, J=2 Гц, 1Н), 11,5 (с, 1Н). IC₅₀=509 нМ.

Приклад 4

[4-Хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1Н-індол-3-іл]оцтова кислота



Метод А:

Стадія 1. Ди-трет-бутилдикarbonат (39,6 г) додають до розчину 4-хлоріндолу (25 г) і 4-(диметиламіно)піридину (2 г) у DCM (800 мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 18 годин. Реакційну суміш промивають 1Н HCl (150 мл) і 1Н NaHCO₃ (150 мл). Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують. Сирий залишок перекристалізовують з гептану/ефіру для одержання трет-бутилового ефіру 4-хлоріндол-1-карбонової кислоти (41,9 г). РХ/МС: R_T=3,34 хв., МС: 251 (М+Н).

Стадія 2. До розчину трет-бутилового ефіру 4-хлоріндол-1-карбонової кислоти (10 г) у сухому THF (50 мл) додають триізопропілборат (13,7 мл) у потоці N₂. Суміш охолоджують до 0°C у льодяній бані. Літійдіізопропіламін (33,8 мл, 2М) додають протягом години при температурі 0°C. Реакційну суміш перемішують при температурі 0°C протягом 30 хв. Додають 2Н HCl (80 мл). Одержану суміш екстрагують EtOAc. Органічну фазу сушать, фільтрують і концентрують. Залишок перекристалізовують в ацетонітрилі/H₂O для одержання 1-(трет-бутоксикарбоніл)-4-хлор-1Н-індол-2-ілборонової кислоти у вигляді твердої речовини (4,5 г).

Стадія 3. До розчину 1-(трет-бутоксикарбоніл)-4-хлор-1Н-індол-2-ілборонової кислоти (4,27 г, 14,45 ммоль), 5-бром-2-хлор-N-циклогексилбензолсульфонаміду (3 г, 8,5 ммоль) і CsF (2,58 г, 17 ммоль) у діоксан-H₂O (85 мл, 10:1) додають PdCl₂(dppf)₂ (694 мг, 0,85 ммоль) при кімнатній температурі у потоці N₂. Реакційну суміш нагрівають до 80°C і перемішують протягом 2 годин. Реакційну суміш концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і фільтрують через коротку колонку з силікагелем. Фільтрат концентрують у вакуумі і залишок очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи від 5% до 50% EtOAc у гептані для одержання трет-бутилового ефіру 4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)індол-1-карбонової кислоти у вигляді твердої речовини (3,42 г). РХ/МС: R_T=3,5 хв., МС: 523 (М+Н).

Стадія 4. TFA (20 мл) додають до розчину трет-бутилового ефіру 4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)індол-1-карбонової кислоти (3,42 г, 6,53 ммоль) у DCM (40 мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом ночі. Суміш концентрують у вакуумі.

Залишок розчиняють в EtOAc і промивають 1н NaHCO₃. Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують для одержання 2-хлор-5-(4-хлор-1Н-індол-2-іл)-N-циклогексилбензолсульфонаміду у вигляді твердої речовини (2,8 г). РХ/МС: R_T=3,04 хв., МС: 423 (М+Н).

Стадія 5. Етилоксалілхлорид (2,42 г, 17,8 ммоль) повільно додають до суспензії 2-хлор-N-циклогексил-5-(1Н-індол-2-іл)бензолсульфонаміду (1,5 г, 3,54 ммоль) у дихлоретані (150 мл) з подальшим додаванням AlCl₃ (2,36 г, 17,8 ммоль) при температурі 0°C. Одержаний темно-коричневий розчин доводять до кімнатної температури і перемішують протягом 16 годин. До реакційної суміші додають MeOH (5 мл) при температурі 0°C і розбавляють DCM. Органічну фазу промивають водою, сольовим розчином, сушать над Na₂SO₄ і концентрують для одержання етилового ефіру [4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1Н-індол-3-іл]оксооцтової кислоти у вигляді твердої речовини (1,8 г). РХ/МС: R_T=2,87 хв, МС: 523 (М+Н). ¹Н ЯМР (300 МГц, DMSO-D₆) δ 0,8-1,7 (серії м, 13Н), 3,04 (м, 1Н), 4,07 (кв, J=14,3 Гц, J=7,2 Гц, 2Н), 7,3 (м, 2Н), 7,54 (дд, J=4,2 Гц, 2,4 Гц, 1Н), 7,83 (м, 2Н), 8,04 (д, J=8,1 Гц, 1Н), 8,17 (д, J=2 Гц, 1Н), 12,95 (с, 1Н).

Стадія 6. Етиловий ефір [4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1Н-індол-3-іл]оксооцтової кислоти (1,8 г, 3,45 ммоль) перемішують з триетилсиланом (6 мл) і TFA (24 мл) при кімнатній температурі. Після перемішування протягом ~72 годин реакційну суміш концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють у DCM (~150 мл) і промивають двічі водою (~100 мл), потім сольовим розчином (~50 мл), сушать над Na₂SO₄ і концентрують у вакуумі. Залишок очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 5%-50% EtOAc у гептані для одержання етилового ефіру [4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1Н-індол-3-іл]оксооцтової кислоти у вигляді порошку (1,45 г). РХ/МС: R_T=3,14 хв., МС: 509 (М+Н). ¹Н ЯМР (300 МГц, DMSO-D₆) δ 0,8-1,7 (серії м, 13Н), 3,03 (м, 1Н), 3,96 (с, 2Н), 4,14 (кв, J=14,2 Гц, J=7,2 Гц, 2Н), 7,07 (д, J=7,5 Гц, 1Н), 7,14 (т, J=7,8 Гц, 1Н), 7,4 (д, J=8 Гц, 1Н), 7,8 (м, 2Н), 7,98 (д, J=8,1 Гц, 1Н), 8,14 (д, J=2 Гц, 1Н), 11,95 (с, 1Н).

Стадія 7. Суміш етилового ефіру [4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1Н-індол-3-іл]оксооцтової кислоти (1,45 г, 2,85 ммоль) і моногідрату гідроксиду літію (600 мг, 14,3 ммоль) у MeOH/H₂O (2:1, 100 мл) перемішують при температурі 80°C протягом 4 годин. До суміші додають KOH (800 мг; 14,3 ммоль) і продовжують перемішувати при температурі 80°C протягом 16 годин. Реакційну суміш концентрують у вакуумі. Залишок підкислюють водним 2н розчином HCl (рН ~2). Утворені білі тверді речовини були зібрані методом фільтрації, промиті Et₂O, гептаном і висушені у вакуумі протягом ~72 годин для одержання [4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1Н-індол-3-іл]оксооцтової кислоти у вигляді твердої кристалічної речовини (1,1 г). РХ/МС: R_T=2,64 хв., МС: 481 (М+Н); ¹Н ЯМР (300 МГц, DMSO-D₆) δ 0,9-1,7 (серії м, 10Н), 3,05 (м, 1Н), 3,88 (с, 2Н), 7,06 (д, J=7,4 Гц, 1Н), 7,14 (т, J=7,8 Гц, 1Н), 7,40 (д, J=7,9 Гц, 1Н),

7,8 (м, 2Н), 7,97 (д, J=8,1 Гц, 1Н), 8,18 (д, J=1,8 Гц, 1Н), 11,92 (с, 1Н), 12,45 (уш.с, 1Н). IC₅₀=0,2 нМ.

Метод В:

Стадія 1. Ди-трет-бутилдикарбонат (39,6 г) додають до розчину 4-хлоріндолу (25 г) і 4-(диметиламіно)піридину (2 г) у DCM (800 мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 18 годин. Реакційну суміш промивають 1н HCl (150 мл) і 1н NaHCO₃ (150 мл). Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують. Сирий залишок перекристалізовують з гептану/ефіру для одержання трет-бутилового ефіру 4-хлоріндол-1-карбонової кислоти (41,9 г).

Стадія 2. До розчину трет-бутилового ефіру 4-хлоріндол-1-карбонової кислоти (10 г) у сухому THF (50 мл) додають триізопропілборат (13,7 мл) у потоці N₂. Суміш охолоджують до 0°C у льодяній бані. Літійдіізопропіламін (33,8 мл, 2М) додають протягом години при температурі 0°C. Реакційну суміш перемішують при температурі 0°C протягом 30 хв. Додають 2н HCl (80 мл). Одержану суміш екстрагують EtOAc. Органічну фазу сушать, фільтрують і концентрують. Залишок перекристалізовують в ацетонітрилі/H₂O для одержання 1-(трет-бутоксикарбоніл)-4-хлор-1Н-індол-2-ілборонової кислоти у вигляді твердої речовини (4,5 г).

Стадія 3. До розчину 1-(трет-бутоксикарбоніл)-4-хлор-1Н-індол-2-ілборонової кислоти (1,04 г), 5-бром-2-хлор-N-циклогексилбензолсульфонаміду (1 г) і CsF (864 мг) у діоксан-H₂O (29 мл, 10:1) додають PdCl₂(dppf)₂ (232 мг) при кімнатній температурі у присутності азоту. Реакційну суміш нагрівають до 80°C і перемішують протягом ночі. Реакційну суміш концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і фільтрують через коротку колонку з силікагелем. Фільтрат концентрують у вакуумі і очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 10%-50% EtOAc у гептані для одержання трет-бутилового ефіру 4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)індол-1-карбонової кислоти у вигляді твердої речовини (1,04 г).

Стадія 4. Трифтороцтову кислоту (5 мл) додають до розчину трет-бутилового ефіру 4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)індол-1-карбонової кислоти (1,04 г) у DCM (10 мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 4 годин. Суміш концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають 1н NaHCO₃. Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують для одержання 2-хлор-5-(4-хлор-1Н-індол-2-іл)-N-циклогексилбензолсульфонаміду у вигляді твердої речовини (860 мг). РХ/МС: R_T=3,06 хв., МС: 423 (М+Н).

Стадія 5. Оксалілхлорид (0,26 мл) повільно додають до розчину 2-хлор-5-(4-хлор-1Н-індол-2-іл)-N-циклогексилбензолсульфонаміду (860 мг) у дихлорметані (20 мл) при кімнатній температурі. Після перемішування протягом 2 годин додають MeOH (5 мл) і перемішують протягом 15 хв. Суміш концентрують. Залишок очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 10%-50% EtOAc у гептані для одержання метилового ефіру [4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-

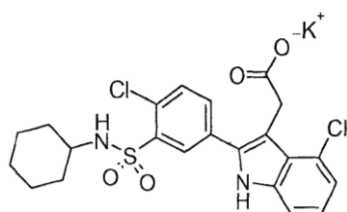
1H-індол-3-іл]оксооцтової кислоти у вигляді твердої речовини (140 мг).

Стадія 6. Триетилсилан (0,086 мл) повільно додають до розчину метилового ефіру [4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]оксооцтової кислоти (140 мг) у трифтороцтовій кислоті (1,4 мл) при кімнатній температурі. Після перемішування протягом ночі леткі фракції видаляють під вакуумом. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають 1N NaHCO₃. Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують. Залишок очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 10%-50% EtOAc у гептані для одержання метилового ефіру [4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]оцтової кислоти у вигляді твердої речовини (93 мг).

Стадія 7. До розчину метилового ефіру [4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]оцтової кислоти (92 мг) у MeOH/H₂O (1:1, 3,6 мл) додають моногідрат гідроксиду літію (16 мг). Реакційну суміш перемішують при температурі 80°C протягом 18 годин. Додають EtOAc (10 мл) і розчин промивають 1N HCl (5 мл). Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують для одержання [4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]оцтової кислоти у вигляді твердої речовини (67 мг). PX/MC: R_f=2,52 хв., MC: 481 (M+H); ¹H ЯМР (300 МГц, CD₃OD) δ 1,09-1,35 (м, 5H), 1,51-1,74 (м, 5H), 3,11 (м, 1H), 3,81 (уш.с, 2H), 7,05 (м, 2H), 7,39 (м, 1H), 7,65 (м, 2H), 8,32 (м, 1H), 11,17 (уш.с, 1H).

Приклад 5

Калій [4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]ацетат

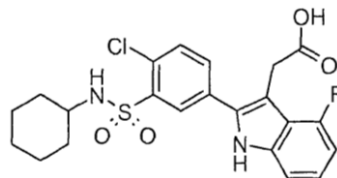


Суміш [4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]оцтової кислоти (537 мг, 1,115 ммоль) і 200 мл етанолу перемішують при температурі ~40°C протягом 10 хв. Одержаний розчин охолоджують до кімнатної температури і додають гідроксид калію (62 мг, 1,1 ммоль). Продовжують перемішування при кімнатній температурі до повного розчинення KOH. Розчин концентрують у вакуумі при температурі ~40°C. Утворені білі тверді речовини сушать у вакуумі протягом ~20 годин для одержання [4-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]ацетату калію у вигляді твердої кристалічної речовини (575 мг). PX/MC: R_T=2,64 хв., MC: 481 (M+H вихідної кислоти). ¹H ЯМР (300МГц, DMSO-D₆) δ 0,9-1,7 (серії м, 10H), 3,06 (м, 1H), 3,66 (с, 2H), 6,93 (д, J=7,2 Гц, 1H), 7,01 (т, J=7,8 Гц, 1H), 7,28 (д, J=7,7 Гц, 1H), 7,66 (д, J=8,3 Гц, 1H), 8,1

(дд, J=6,4 Гц, 2 Гц, 2H), 8,32 (д, J=2 Гц, 1H), 11,75 (с, 1H).

Приклад 6

[2-(4-Хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-4-фтор-1H-індол-3-іл]оцтова кислота



Стадія 1. Ди-трет-бутилкарбонат (8,88 г) додають до розчину 4-фторіндолу (5 г) і 4-(диметиламіно)піридину (0,45 г) у дихлорметані (185 мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 4 годин. Реакційну суміш промивають 1N HCl (100 мл) і 1N NHCO₃ (100 мл). Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують для одержання трет-бутилового ефіру 4-фторіндол-1-карбонової кислоти у вигляді масла (8,32 г). PX/MC: R_T=3,34 хв., MC: 236,09 (M+H).

Стадія 2. До розчину трет-бутилового ефіру 4-фторіндол-1-карбонової кислоти (3 г) у сухому THF (16 мл) додають триізопропілборат (3,6 мл) у присутності азоту. Суміш охолоджують до 0°C у льодяній бані. Літійдіізопропіламін (12,8 мл, 2M) додають протягом години при температурі 0°C. Реакційну суміш перемішують при температурі 0°C протягом 30 хв. Додають 2N HCl (10 мл), щоб погасити реакцію. Одержану суміш екстрагують EtOAc. Залишок очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 5%-50% EtOAc у гептані для одержання 1-(трет-бутоксикарбоніл)-4-фтор-1H-індол-2-ілборонової кислоти у вигляді твердої речовини (1,65 г).

Стадія 3. До розчину 1-(трет-бутоксикарбоніл)-4-фтор-1H-індол-2-ілборонової кислоти (1,19 г), 5-бром-2-хлор-N-циклогексилбензолсульфонамід (1 г) і CsF (863 мг) у діоксан-H₂O (27,5 мл, 10:1) додають PdCl₂(dppf)₂ (231 мг) при кімнатній температурі у присутності азоту. Реакційну суміш нагрівають до 80°C і перемішують протягом 2 днів. Реакційну суміш концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і фільтрують через коротку колонку з силікагелем. Фільтрат концентрують у вакуумі і очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 5%-30% EtOAc у гептані для одержання 2-хлор-5-(4-фтор-1H-індол-2-іл)-N-циклогексилбензолсульфонамід у вигляді твердої речовини (516 мг). PX/MC: R_T=4,46 хв, MC: 407 (M+H).

Стадія 4. Оксалілхлорид (0,16 мл) повільно додають до розчину 2-хлор-5-(4-фтор-1H-індол-2-іл)-N-циклогексилбензолсульфонамід (496 мг) у дихлорметані (12 мл) при кімнатній температурі. Після перемішування протягом 3 годин додають MeOH (4 мл) і перемішують протягом 15 хв. Суміш концентрують. Залишок очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 5%-50% EtOAc у гептані для одержання метилового ефіру [4-фтор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-

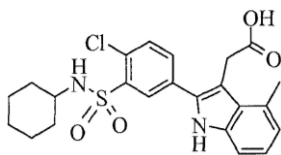
іл]оксооцтової кислоти у вигляді твердої речовини (470 мг).

Стадія 5. Триетилсилан (0,3 мл) повільно додають до розчину метилового ефіру [4-фтор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1Н-індол-3-іл]оксооцтової кислоти (570 мг) у трифтороцтовій кислоті (5 мл) при кімнатній температурі. Після перемішування протягом ночі леткі фракції видаляють під вакуумом. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають 1н NaHCO₃. Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують. Залишок очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 10%-50% EtOAc у гептані для одержання метилового ефіру [4-фтор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1Н-індол-3-іл]оцтової кислоти у вигляді білої твердої речовини (350 мг). РХ/МС: R_T=3,18 хв., МС: 479,1 (М+Н).

Стадія 6. До розчину метилового ефіру [4-фтор-2-(4-хлор-3-циклогексил-сульфамойлфеніл)-1Н-індол-3-іл]оцтової кислоти (250 мг) у MeOH/H₂O (1:1, 7 мл) додають моногідрат гідроксиду літію (44 мг). Реакційну суміш перемішують при температурі 80°C протягом ночі. Додають EtOAc (15 мл) і розчин промивають 1н HCl (10 мл). Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують для одержання [2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-4-фтор-1Н-індол-3-іл]оцтової кислоти у вигляді твердої речовини (219 мг). РХ/МС: R_T=2,83 хв., МС: 465 (М+Н); ¹Н ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 1,09-1,24 (м, 5Н), 1,49-1,61 (м, 5Н), 3,07 (м, 1Н), 3,81 (с, 2Н), 6,8 (м, 1Н), 7,15 (м, 1Н), 7,26 (м, 1Н), 7,84 (м, 2Н), 7,98 (м, 1Н), 8,23 (м, 1Н), 11,86 (уш.с, 1Н). ІС₅₀=0,7 нМ.

Приклад 7

[2-(4-Хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-4-метил-1Н-індол-3-іл]оцтова кислота



Стадія 1. Ди-трет-бутилдикarbonат (9,15 г) додають до розчину 4-метиліндолу (5 г) і 4-(диметиламіно)піридину (0,46 г) у дихлорметані (190 мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 4 годин. Реакційну суміш промивають 1н HCl (100 мл) і 1н NaHCO₃ (100 мл). Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують для одержання трет-бутилового ефіру 4-метиліндол-1-карбонової кислоти у вигляді масла (8,75 г).

Стадія 2. До розчину трет-бутилового ефіру 4-метиліндол-1-карбонової кислоти (3 г) у сухому THF (16 мл) додають триізопропілборат (4,45 мл) у присутності азоту. Суміш охолоджують до 0°C у льодяній бані. Додають літійдіізопропіламін (11,6 мл, 2М) протягом години при температурі 0°C. Реакційну суміш перемішують при температурі 0°C протягом 30 хв. Додають 2Н HCl (10 мл), щоб погасити реакцію. Одержану суміш екстрагують EtOAc. Залишок перекристалізують у CH₃CN/H₂O для одержання 1-(трет-

бутоксикарбоніл)-4-метил-1Н-індол-2-ілборонової кислоти у вигляді твердої речовини (1,53 г).

Стадія 3. До розчину 1-(трет-бутоксикарбоніл)-4-метил-1Н-індол-2-ілборонової кислоти (1,41 г), 5-бром-2-хлор-N-циклогексилбензолсульфонамід (1 г) і CsF (863 мг) у діоксан-H₂O (27,5 мл, 10:1) додають PdCl₂(dppf)₂ (232 мг) при кімнатній температурі у присутності азоту. Реакційну суміш нагрівають до 80°C і перемішують протягом ночі. Реакційну суміш концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і фільтрують через коротку колонку з силікагелем. Фільтрат концентрують у вакуумі і очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 0%-50% EtOAc у гептані для одержання трет-бутилового ефіру 2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-4-метиліндол-1-карбонової кислоти у вигляді твердої речовини (845 мг).

Стадія 4. Трифтороцтову кислоту (5 мл) додають до розчину трет-бутилового ефіру 2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-4-метиліндол-1-карбонової кислоти (845 мг) у дихлорметані (10 мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом ночі. Суміш концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають 1н NaHCO₃. Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують для одержання 2-хлор-5-(4-метил-1Н-індол-2-іл)-N-циклогексилбензолсульфонамід у вигляді твердої речовини (652 мг). РХ/МС: R_T=3,11 хв., МС: 403 (М+Н).

Стадія 5. Оксалілхлорид (0,21 мл) повільно додають до розчину 2-хлор-5-(4-метил-1Н-індол-2-іл)-N-циклогексилбензолсульфонамід (650 мг) у дихлорметані (16 мл) при кімнатній температурі. Після перемішування протягом ночі додають MeOH (5 мл) і перемішують протягом 15 хв. Суміш концентрують. Залишок очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 0%-50% EtOAc у гептані для одержання метилового ефіру [2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-4-метил-1Н-індол-3-іл]оксооцтової кислоти у вигляді жовтої твердої речовини (588 мг). РХ/МС: R_T=2,8 хв., МС: 489 (М+Н).

Стадія 6. Триетилсилан (0,38 мл) повільно додають до розчину метилового ефіру [2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-4-метил-1Н-індол-3-іл]оксооцтової кислоти (588 мг) у трифтороцтовій кислоті (2 мл) при кімнатній температурі. Після перемішування протягом ночі леткі фракції видаляють під вакуумом. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають 1н NaHCO₃. Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують. Залишок очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 0%-40% EtOAc у гептані для одержання метилового ефіру [2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-4-метил-1Н-індол-3-іл]оцтової кислоти у вигляді твердої речовини (338 мг). РХ/МС: R_T=2,95 хв., МС: 475 (М+Н).

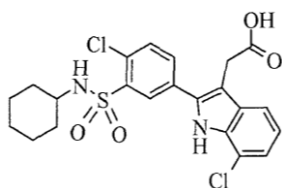
Стадія 7. До розчину метилового ефіру [2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-4-метил-1Н-індол-3-іл]оцтової кислоти (330 мг) у MeOH/H₂O (1:1, 7 мл) додають моногідрат гідроксиду літію (58 мг). Реакційну суміш перемішують при температурі 80°C протягом 18 годин. Додають EtOAc (15 мл) і

розчин промивають 1н HCl (10 мл). Органічну фазу відділяють, сушать над $MgSO_4$ і концентрують для одержання

[2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-4-метил-1Н-індол-3-іл]оцтової кислоти у вигляді білої твердої речовини (210 мг). РХ/МС: $R_f=2,60$ хв., МС: 461,12 (М+Н); 1H ЯМР (300 МГц, $DMCO$) δ 1,02-1,28 (м, 5H), 1,46-1,64 (м, 5H), 3,07 (м, 1H), 2,63 (с, 3H), 3,95 (с, 2H), 6,79 (д, $J=6,9$ Гц, 1H), 7,05 (т, $J=8,1$ Гц, 1H), 7,26 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 7,80 (м, 2H), 7,96 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 8,21 (с, 1H), 11,53 (с, 1H), 12,54 (уш.с, 1H). $IC_{50}=1,5$ нМ.

Приклад 8

[7-Хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1Н-індол-3-іл]оцтова кислота



Стадія 1. Ди-трет-бутилдикarbonат (7,92 г) додають до розчину 7-хлоріндолу (5 г) і 4-(диметиламіно)піридину (0,4 г) у DCM (165 мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 18 годин. Реакційну суміш промивають 1н HCl (100 мл) і 1н $NHCO_3$ (100 мл). Органічну фазу відділяють, сушать над $MgSO_4$ і концентрують для одержання трет-бутилового ефіру 7-хлоріндол-1-карбонової кислоти у вигляді масла (8,22 г).

Стадія 2. До розчину трет-бутилового ефіру 7-хлоріндол-1-карбонової кислоти (3 г) у сухому THF (15 мл) додають триізопропілборат (4,11 мл) у присутності азоту. Суміш охолоджують до $0^\circ C$ у льодяній бані. Додають літійдіізопропіламін (8,94 мл, 2М) протягом години при температурі $0^\circ C$. Реакційну суміш перемішують при температурі $0^\circ C$ протягом 30 хв. Додають 2н HCl (10 мл), щоб погасити реакцію. Одержану суміш екстрагують EtOAc. Залишок очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 10%-50% EtOAc у гептані для одержання 1-(трет-бутоксикарбоніл)-7-хлор-1Н-індол-2-ілборонової кислоти у вигляді твердої речовини (0,86 г).

Стадія 3. До розчину 1-(трет-бутоксикарбоніл)-7-хлор-1Н-індол-2-ілборонової кислоти (860 мг), 5-бром-2-хлор-N-циклогексилбензолсульфонаміду (733 мг) і CsF (632 мг) у діоксан- H_2O (22 мл, 10:1) додають $PdCl_2(dppf)_2$ (163 мг) при кімнатній температурі у присутності азоту. Реакційну суміш нагрівають до $80^\circ C$ і перемішують протягом ночі. Реакційну суміш концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і фільтрують через коротку колонку з силікагелем. Фільтрат концентрують у вакуумі і очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи від 10% до 50% EtOAc у гептані для одержання трет-бутилового ефіру 7-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)індол-1-карбонової кислоти у вигляді твердої речовини (630 мг).

Стадія 4. Трифтороцтову кислоту (3 мл) додають до розчину трет-бутилового ефіру 7-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)індол-1-карбонової кислоти (630 мг) у дихлорметані (7 мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом ночі. Суміш концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають 1н $NaHCO_3$. Органічну фазу відділяють, сушать над $MgSO_4$ і концентрують у вакуумі. Сирий продукт очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 10%-40% EtOAc у гептані для одержання 2-хлор-5-(7-хлор-1Н-індол-2-іл)-N-циклогексилбензолсульфонаміду у вигляді твердої речовини (386 мг).

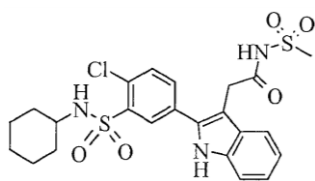
Стадія 5. Оксалілхлорид (0,12 мл) повільно додають до розчину 2-хлор-5-(7-хлор-1Н-індол-2-іл)-N-циклогексилбензолсульфонаміду (386 мг) у дихлорметані (9 мл) при кімнатній температурі. Після перемішування протягом 18 годин додають MeOH (3 мл) і перемішують протягом 15 хв. Суміш концентрують. Залишок очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 5%-45% EtOAc у гептані для одержання метилового ефіру [7-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1Н-індол-3-іл]оксооцтової кислоти у вигляді твердої речовини (239 мг).

Стадія 6. Триетилсилан (0,15 мл) повільно додають до розчину метилового ефіру [7-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1Н-індол-3-іл]оксооцтової кислоти (239 мг) у трифтороцтовій кислоті (2,4 мл) при кімнатній температурі. Після перемішування протягом ночі леткі фракції видаляють під вакуумом. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають 1Н $NaHCO_3$. Органічну фазу відділяють, сушать над $MgSO_4$ і концентрують. Залишок очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 10%-50% EtOAc у гептані для одержання метилового ефіру [7-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1Н-індол-3-іл]оцтової кислоти у вигляді твердої речовини (93 мг). РХ/МС: $R_f=4,5$ хв., МС: 495 (М+Н).

Стадія 7. До розчину метилового ефіру [7-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1Н-індол-3-іл]оцтової кислоти (93 мг) у MeOH/ H_2O (1:1, 4 мл) додають моногідрат гідроксиду літію (16 мг). Реакційну суміш перемішують при температурі $80^\circ C$ протягом 18 годин. Додають EtOAc (10 мл) і розчин промивають 1н HCl (5 мл). Органічну фазу відділяють, сушать над $MgSO_4$ і концентрують для одержання [7-хлор-2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1Н-індол-3-іл]оцтової кислоти у вигляді твердої речовини (85 мг). РХ/МС: $R_f=2,6$ хв., МС: 481 (М+Н); 1H ЯМР (300 МГц, $DMCO$) δ 1,09-1,35 (м, 5H), 1,59-1,73 (м, 5H), 3,19 (м, 1H), 3,84 (уш.с, 2H), 7,21 (м, 1H), 7,38 (м, 1H), 7,67 (м, 1H), 7,95 (м, 1H), 8,02-8,05 (м, 2H), 8,40 (уш.с, 1H), 11,9 (уш.с, 1H). $IC_{50}=3,7$ нМ.

Приклад 9

2-Хлор-N-циклогексил-5-[3-(2-метансульфоніламіно-2-оксоетил)-1Н-індол-2-іл]бензолсульфонамід



Стадія 1. До розчину 1-(трет-бутоксикарбоніл)-1H-індол-2-ілборонової кислоти (10 г), 5-бром-2-хлор-N-циклогексилбензолсульфонаміду (6,8 г) і CsF (5,8 г) у діоксан-Н₂O (220 мл, 10:1) додають PdCl₂(dppf)₂ (1,57 г) при кімнатній температурі у присутності азоту. Реакційну суміш нагрівають до 80°C і перемішують протягом 6 годин. Реакційну суміш концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і фільтрують через коротку колонку з силікагелем. Фільтрат концентрують у вакуумі і очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 10%-50% EtOAc у гептані для одержання трет-бутилового ефіру 2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)індол-1-карбонової кислоти у вигляді твердої речовини (8,2 г).

Стадія 2. Трифтороцтову кислоту (65 мл) додають до розчину трет-бутилового ефіру 2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)індол-1-карбонової кислоти (13 г) у дихлорметані (150 мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 2 годин. Суміш концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають 1N NaHCO₃. Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують для одержання 2-хлор-5-(1H-індол-2-іл)-N-циклогексилбензолсульфонаміду у вигляді твердої речовини (9,7 г). PX/MC: R_T = 3,17 хв., MC: 389 (M+H).

Стадія 3. Оксалілхлорид (0,33 мл) повільно додають до розчину 2-хлор-5-(1H-індол-2-іл)-N-циклогексилбензолсульфонаміду (1 г) у дихлорметані (25 мл) при кімнатній температурі. Після перемішування протягом 18 годин додають MeOH (5 мл) і перемішують протягом 15 хв. Суміш концентрують. Залишок очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 10%-45% EtOAc у гептані для одержання метилового ефіру [2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]оксооцтової кислоти у вигляді твердої речовини (1,2 г).

Стадія 4. Триетилсилан (0,59 мл) повільно додають до розчину метилового ефіру [2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]оксооцтової кислоти (1,2 г) у трифтороцтовій кислоті (12 мл) при кімнатній температурі. Після перемішування протягом ночі леткі фракції видаляють під вакуумом. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають 1N NaHCO₃. Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують. Залишок очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 10%-50% EtOAc у гептані для одержання метилового ефіру [2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]оцтової кислоти у вигляді твердої речовини (818 мг).

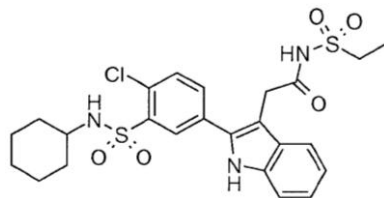
Стадія 5. До розчину метилового ефіру [2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]оцтової кислоти (818 мг) у MeOH/H₂O (1:1, 18

мл) додають моногідрат гідроксиду літію (149 мг). Реакційну суміш перемішують при температурі 80°C протягом 18 годин. Додають EtOAc (15 мл) і розчин промивають 1N HCl (10 мл). Органічний шар відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують для одержання [2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]оцтової кислоти у вигляді твердої речовини (740 мг).

Стадія 6. До розчину [2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]оцтової кислоти (185 мг), гідрохлориду N-(3-диметиламінопропіл)-N'-етилкарбодііміду (82 мг) і диметиламінопіридину (50 мг) у дихлорметані (4 мл) додають метансульфонамід (41 мг) при температурі 0°C. Реакційну суміш доводять до кімнатної температури і перемішують протягом ночі. Одержаний розчин концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають 1N HCl. Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують у вакуумі. Сирий залишок стирають у порошок з дихлорметаном і фільтрують для одержання 2-хлор-N-циклогексил-5-[3-(2-метансульфоніламіно-2-оксоетил)-1H-індол-2-іл]бензолсульфонаміду у вигляді твердої речовини (115 мг). PX/MC: R_f=2,39 хв., MC: 524 (M+H); ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 1,10-1,28 (м, 5H), 1,61-1,64 (м, 5H), 3,07 (м, 1H), 3,26 (с, 3H), 3,88 (с, 2H), 7,10 (м, 1H), 7,21 (м, 1H), 7,44 (м, 1H), 7,61 (м, 1H), 7,82 (м, 1H), 7,98 (м, 2H), 8,25 (с, 1H), 11,65 (с, 1H), 12,12 (с, 1H). IC₅₀=2 нМ.

Приклад 10

2-Хлор-N-циклогексил-5-[3-(2-етансульфоніламіно-2-оксоетил)-1H-індол-2-іл]бензолсульфонамід

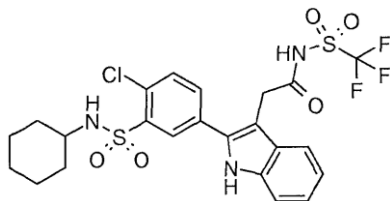


Стадія 1. До розчину [2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]оцтової кислоти (200 мг), гідрохлориду N-(3-диметиламінопропіл)-N'-етилкарбодііміду (90 мг) і диметиламінопіридину (55 мг) у дихлорметані (4,5 мл) додають етансульфонамід (51 мг) при температурі 0°C. Реакційну суміш доводять до кімнатної температури і перемішують протягом ночі. Одержаний розчин концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають 1N HCl. Органічний шар відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують у вакуумі. Сирий залишок стирають у порошок з дихлорметаном і фільтрують для одержання 2-хлор-N-циклогексил-5-[3-(2-етансульфоніламіно-2-оксоетил)-1H-індол-2-іл]бензолсульфонаміду у вигляді твердої речовини (174 мг). PX/MC: R_T=2,44 хв., MC: 538 (M+H); ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 1,07-1,33 (м, 8H), 1,51-1,69 (м, 5H), 3,13 (м, 1H), 3,34 (м, 2H), 3,94 (с, 2H), 7,14 (т, J=7,2 Гц, 1H), 7,26 (т, J=7,2 Гц, 1H), 7,50 (д, J=7,2 Гц, 1H), 7,67 (д, J=7,2 Гц, 1H), 7,87 (д, J=7,2

Гц, 1H), 8,00 (м, 1H), 8,34 (м, 1H), 11,70 (с, 1H), 12,06 (с, 1H). IC₅₀=2,7 нМ.

Приклад 11

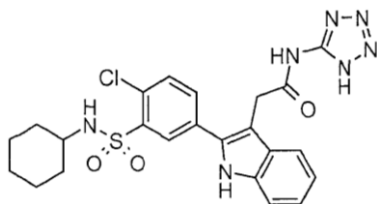
2-Хлор-N-циклогексил-5-[3-(2-оксо-2-трифторметансульфоніламіноетил)-1H-індол-2-іл]бензолсульфонамід



Стадія 1. До розчину [2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]оцтової кислоти (150 мг), гідрохлориду N-(3-диметиламінопропіл)-N'-етилкарбодііміду (68 мг) і диметиламінопіридину (40 мг) у дихлорметані (4 мл) додають трифторметансульфонамід (52 мг) при температурі 0°C. Реакційну суміш доводять до кімнатної температури і перемішують протягом ночі. Одержаний розчин концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають 1н HCl. Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують у вакуумі для одержання 2-хлор-N-циклогексил-5-[3-(2-трифторметансульфоніламіно-2-оксоетил)-1H-індол-2-іл]бензолсульфонаміду у вигляді твердої речовини (206 мг). PX/MC: R_T=2,58 хв., MC: 576 (M+H); ¹H ЯМР (300 МГц, CD₃OD) δ 1,17-1,27 (м, 5H), 1,55-1,75 (м, 5H), 3,12 (м, 1H), 4,01 (с, 2H), 7,11 (м, 1H), 7,42 (м, 1H), 7,50 (м, 1H), 7,68 (м, 1H), 7,80 (м, 1H), 8,3 (м, 1H). IC₅₀=14 нМ.

Приклад 12

2-[2-(4-Хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]-N-(1H-тетразол-5-іл)ацетамід



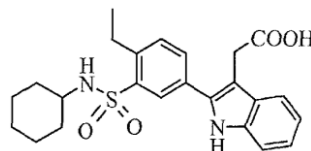
Стадія 1. До розчину [2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]оцтової кислоти (200 мг), гідрохлориду N-(3-диметиламінопропіл)-N'-етилкарбодііміду (90 мг) і диметиламінопіридину (55 мг) у дихлорметані (4,5 мл) додають 1H-тетразол-5-іламін (48 мг) при температурі 0°C. Реакційну суміш доводять до кімнатної температури і перемішують протягом 2 днів. Одержаний розчин концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають 1н HCl. Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують у вакуумі. Сирий залишок стирають у порошок з дихлорметаном і фільтрують для одержання 2-[2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]-N-

(1H-тетразол-5-іл)ацетаміду у вигляді твердої речовини (50 мг). PX/MC: R_T=2,26 хв., MC: 514 (M+H); ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO) δ 1,14-1,3 (м, 5H), 1,51-

1,65 (м, 5H), 3,1 (м, 1H), 4,1 (с, 2H), 7,11 (м, 1H), 7,23 (м, 1H), 7,48 (м, 1H), 7,7 (м, 1H), 7,84 (м, 1H), 8,06 (м, 2H), 8,34 (с, 1H), 11,69 (уш.с, 1H), 12,46 (уш.с, 1H). IC₅₀=15 нМ.

Приклад 13

[2-(3-Циклогексилсульфамойл-4-етилфеніл)-1H-індол-3-іл]оцтова кислота



Стадія 1. 1-Бром-4-етилбензол (3 г) розчиняють у 30 мл DCM і охолоджують до 0°C у льодяній бані. Хлорсульфонову кислоту (11,3 г) додають по краплях протягом 20 хв. і розчин перемішують при температурі 0°C протягом 4 годин. Реакційну суміш обережно виливають на лід і доводять до кімнатної температури. Суміш переносять у ділільну лійку і розділяють шари. Водний шар промивають додатковим DCM. Органічні шари об'єднують, сушать (MgSO₄) і випарюють для одержання 5-бром-2-етилбензолсульфонілхлориду (1,78 г) у вигляді масла, яке використовується без подальшого очищення у стадії 2.

Стадія 2. Циклогексиламін (0,9 г) і діізопропілетиламін (1,5 г) розчиняють у 20 мл DCM і розчин охолоджують до 0°C. До нього додають порціями 5-бром-2-етилбензолсульфонілхлорид (1,7 г у 20 мл DCM) протягом 5 хв. Суміш перемішують при температурі 0°C протягом 30 хв. і при кімнатній температурі протягом 1 години. Розчинник видаляють при зниженому тиску і до залишку додають 10% водну HCl і DCM. Фази розділяють і водну фазу промивають додатковим DCM. Об'єднані фази DCM сушать (MgSO₄), фільтрують і випарюють. Одержану тверду речовину перекристалізують з DCM/гептану для одержання 5-бром-N-циклогексил-2-етилбензолсульфонаміду (1,36 г). PX/MC: R_T=2,96 хв., MC: 346 (M+H).

Стадія 3. 5-Бром-N-циклогексил-2-етилбензолсульфонамід (1,3 г), 1-Вос-індол-2-боронову кислоту (1,48 г) і цезію фторид (0,86 г) змішують з 10:1 діоксан:H₂O (44 мл). Розчин дегазують азотом і додають PdCl₂(dppf)₂ (0,31 г). Суміш нагрівають до 80°C протягом 2,5 години. Реакційну суміш виливають у воду. Додають EtOAc і розділяють фази. Фазу EtOAc концентрують. Додають гептан для одержання осаду, який видаляють фільтрацією. Фільтрат EtOAc пропускають через шар силікагелю, випарюють на силікагелі і очищають на 80 г колонці силікагелю, використовуючи систему очищення ISCO Companion (градієнт EtOAc/гептан), для одержання трет-бутилового ефіру 2-(3-циклогексилсульфамойл-4-етилфеніл)індол-1-карбонової кислоти (1,19 г). PX/MC: R_T=3,54 хв., MC: 483 (M+H).

Стадія 4. Трет-бутиловий ефір 2-(3-циклогексилсульфамойл-4-етилфеніл)індол-1-карбонової кислоти (1,18 г) обробляють 10 мл TFA протягом 30 хв. при кімнатній температурі. TFA видаляють при зниженому тиску. Залишок стру-

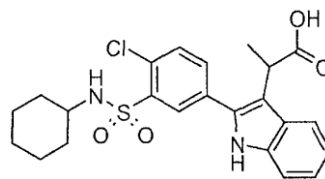
шують з EtOAc і 10% водною NaHCO_3 і розділяють фази. Органічну фазу промивають додатковим водним розчином NaHCO_3 , водою і сольовим розчином. Органічний шар сушать (MgSO_4), фільтрують, випарюють на силікагелі і очищають на 40 г колонці силікагелю, використовуючи систему очищення ISCO Companion (градієнт EtOAc/гептан), для одержання N-циклогексил-2-етил-5-(1H-індол-2-іл)бензолсульфонаміду (0,65 г). PX/MC: $R_f=3,07$ хв., MC: 383 (M+N).

Стадія 5. N-Циклогексил-2-етил-5-(1H-індол-2-іл)бензолсульфонамід (0,64 г) суспендують у 30 мл діетилового ефіру. Оксалілхлорид (0,32 г) додають по краплях при кімнатній температурі і суміш перемішують протягом 6 годин. Додають метанол (2 мл), розчин перемішують протягом 10 хв. і видаляють при зниженому тиску. Сирий матеріал очищають на 80 г колонці силікагелю, використовуючи систему очищення ISCO Companion (градієнт EtOAc/гептан), для одержання метилового ефіру [2-(3-циклогексилсульфамойл-4-етилфеніл)-1H-індол-3-іл]оксооцтової кислоти (0,66 г). PX/MC: $R_f=2,75$ хв., MC: 469 (M+N).

Стадія 6. Метилловий ефір [2-(3-циклогексилсульфамойл-4-етилфеніл)-1H-індол-3-іл]оксооцтової кислоти (0,63 г) розчиняють у 10 мл TFA. Триетилсилан (0,31 г) додають по краплях при кімнатній температурі і розчин перемішують протягом 18 годин. Реакційну суміш концентрують при зниженому тиску. До залишку додають EtOAc і насичену NaHCO_3 і розділяють фази. Фазу EtOAc випарюють на силікагелі і очищають на 40 г колонці силікагелю, використовуючи систему очищення ISCO Companion (градієнт EtOAc/гептан), для одержання метилового ефіру [2-(3-циклогексилсульфамойл-4-етилфеніл)-1H-індол-3-іл]оцтової кислоти (0,53 г). PX/MC: $R_f=2,95$ хв, MC: 455 (M+N); ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 1,05-1,29 (м, 5H), 1,37 (т, J=7,5 Гц, 3H), 1,50-1,79 (м, 5H), 3,14 (кв, J=7,5 Гц, 2H), 3,22 (м, 1H), 3,73 (с, 3H), 3,84 (с, 2H), 4,55 (д, J=7,9 Гц, 1H), 7,16-7,28 (м, 2H), 7,41 (д, J=8,1 Гц, 1H), 7,51 (д, J=8,1 Гц, 1H), 7,69 (д, J=7,7 Гц, 1H), 7,83 (дд, J=7,9, 1,8 Гц, 1H), 8,28 (д, J=1,9 Гц, 1H), 8,32 (с, 1H).

Стадія 7. Метилловий ефір [2-(3-циклогексилсульфамойл-4-етилфеніл)-1H-індол-3-іл]оцтової кислоти (0,33 г) розчиняють у 6 мл 3:3:1 MeOH:THF:H₂O. Додають моногідрат гідроксиду літію (2 екв.) і нагрівають розчин до 80°C протягом ночі. Розчинник випарюють при зниженому тиску. Додають EtOAc і 10% водної HCl і розділяють фази. Фазу EtOAc промивають додатково 10% водною HCl, водою і сольовим розчином. Органічний шар сушать (MgSO_4), фільтрують, випарюють і залишок перекристалізують з DCM/гептану для одержання [2-(3-циклогексилсульфамойл-4-етилфеніл)-1H-індол-3-іл]оцтової кислоти у вигляді твердої речовини (193 мг). PX/MC: $R_f=2,6$ хв, MC: 441 (M+N); ^1H ЯМР (300 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1,0-1,24 (м, 5H), 1,31 (т, J=7,5 Гц, 3H), 1,45-1,62 (м, 5H), 3,05 (м, 1H), 3,08 (кв, J=7,4 Гц, 2H), 3,75 (с, 2H), 7,07 (т, J=7,8 Гц, 1H), 7,18 (т, J=7,7 Гц, 1H), 7,42 (д, J=8 Гц, 1H), 7,59 (м, 2H), 7,76 (д, J=7,9 Гц, 1H), 7,87 (д, J=7,9 Гц, 1H), 8,18 (с, 1H), 11,46 (с, 1H), 12,37 (с, 1H). $\text{IC}_{50}=0,5$ нМ.

Приклад 14
2-[2-(4-Хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]пропіонова кислота



Стадія 1. До розчину 1-(трет-бутоксикарбоніл)індол-2-ілборенової кислоти (5,5 г), 5-бром-2-хлор-N-циклогексилбензолсульфонаміду (5 г) і CsF (4,3 г) у діоксан-H₂O (143 мл, 10:1) додають $\text{PdCl}_2(\text{dppf})_2$ (1,16 г) при кімнатній температурі у присутності азоту. Реакційну суміш нагрівають до 80°C і перемішують протягом 18 годин. Реакційну суміш концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і фільтрують через коротку колонку з силікагелем. Фільтрат концентрують у вакуумі і очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 5%-30% EtOAc у гептані для одержання трет-бутилового ефіру 2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)індол-1-карбонової кислоти у вигляді твердої речовини (6,2 г). PX/MC: $R_f=5,03$ хв, MC: 511 (M+Na).

Стадія 2. Трифтороцтову кислоту (10 мл) додають до розчину трет-бутилового ефіру 2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)індол-1-карбонової кислоти (6,2 мг) у дихлорметані (20 мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом ночі. Суміш концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають 1N NaHCO_3 . Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO_4 і концентрують для одержання 2-хлор-N-циклогексил-5-(1H-індол-2-іл)бензолсульфонаміду у вигляді твердої речовини (5,3 г).

Стадія 3. Оксалілхлорид (1,59 мл) повільно додають до розчину 2-хлор-N-циклогексил-5-(1H-індол-2-іл)бензолсульфонаміду (4,8 мг) у дихлорметані (120 мл) при кімнатній температурі. Після перемішування протягом 3 годин додають MeOH (10 мл) і перемішують протягом 15 хв. Суміш концентрують. Залишок очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 5%-50% EtOAc у гептані для одержання метилового ефіру [2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойл-феніл)-1H-індол-3-іл]оксооцтової кислоти у вигляді твердої речовини (2,5 г).

Стадія 4. Триетилсилан (1,7 мл) повільно додають до розчину метилового ефіру [2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]оксооцтової кислоти (2,5 г) у трифтороцтовій кислоті (25 мл) при кімнатній температурі. Після перемішування протягом ночі леткі фракції видаляють під вакуумом. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають 1N NaHCO_3 . Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO_4 і концентрують. Залишок очищають флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 10%-50% EtOAc у гептані для одержання метилового ефіру [2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-

іл]оцтової кислоти у вигляді твердої речовини (1,84 г). PX/MC: $R_T=4,14$ хв., MC: 461 (M+H).

Стадія 5. Ди-трет-бутилкарбонат (807 мг) додають до розчину метилового ефіру [2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]оцтової кислоти (775 мг), триетиламіну (0,52 мл) і 4-(диметиламіно)піридину (42 мг) у DCM (17 мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 2 днів. Реакційну суміш промивають 1N HCl (10 мл) і 1N NaHCO_3 (10 мл). Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO_4 і концентрують для одержання трет-бутилового ефіру 2-[4-хлор-3-(N-трет-бутилокарбоніл)циклогексилсульфамойлфеніл]-3-метоксикарбонілметиліндол-1-карбонової кислоти (1,03 г).

Стадія 6. До розчину трет-бутилового ефіру 2-[4-хлор-3-(N-трет-бутилокарбоніл)циклогексилсульфамойлфеніл]-3-метоксикарбонілметиліндол-1-карбонової кислоти (864 мг) у DMF (13 мл) додають порціями NaN (157 мг) при температурі 0°C. Одержану суміш перемішують при температурі 0°C протягом 15 хв. і додають MeI (0,82 мл) при температурі 0°C. Реакційну суміш доводять до кімнатної температури і перемішують протягом 3 годин. Реакцію гасять, додаючи насичену NH_4Cl (10 мл). Суміш екстрагують EtOAc (20 мл). Органічну фазу промивають водою (10 мл) 3 рази, відділяють, сушать над MgSO_4 і концентрують. Залишок очищують флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 10%-45% EtOAc у гептані для одержання трет-бутилового ефіру 2-[4-хлор-3-(N-трет-бутилокарбоніл)циклогексилсульфамойлфеніл]-3-(1-метоксикарбоніл-етил)індол-1-карбонової кислоти у вигляді білої твердої речовини (400 мг). PX/MC: $R_T=4,3$ хв., MC: 675 (M+H).

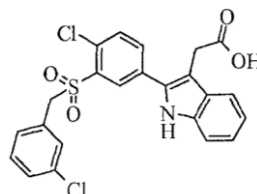
Стадія 7. Трифтороцтову кислоту (2 мл) додають до розчину трет-бутилового ефіру 2-[4-хлор-3-(N-трет-бутилокарбоніл)циклогексилсульфамойлфеніл]-3-(1-метоксикарбоніл-етил)індол-1-карбонової кислоти (165 мг) у дихлорметані (4 мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 4 годин. Суміш концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають 1N NaHCO_3 . Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO_4 і концентрують. Залишок очищують флеш-хроматографією на силікагелі, елюючи 10%-50% EtOAc у гептані для одержання метилового ефіру 2-[2-(4-хлор-3-циклогексил-сульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]пропіонової кислоти у вигляді білої твердої речовини (94 мг). PX/MC: $R_T=3,2$ хв., MC: 475 (M+H).

Стадія 8. До розчину метилового ефіру 2-[2-(4-хлор-3-циклогексил-сульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]пропіонової кислоти (94 мг) у MeOH/ H_2O (1:1, 2 мл) додають моногідрат гідроксиду літію (17 мг). Реакційну суміш перемішують при температурі 80°C протягом 2 годин. Додають EtOAc (10 мл) і промивають розчин 1N HCl (5 мл). Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO_4 і концентрують для одержання 2-[2-(4-хлор-3-циклогексилсульфамойлфеніл)-1H-індол-3-іл]пропіонової кислоти у вигляді твердої речовини

(90 мг). PX/MC: $R_T=2,88$ хв., MC: 461 (M+H); ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO) δ 1,15-1,37 (м, 5H), 1,51-1,71 (м, 8H), 3,13 (м, 1H), 4,06 (м, 1H), 7,02 (т, $J=7,2$ Гц, 1H), 7,14 (т, $J=6,9$ Гц, 1H), 7,38 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 7,67 (м, 2H), 7,84 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 8,37 (с, 1H). $\text{IC}_{50}=5,3$ нМ.

Приклад 15

{2-[4-Хлор-3-(3-хлорфенілметансульфоніл)феніл]-1H-індол-3-іл]оцтова кислота



Стадія 1. Сульфід натрію (1,7 г) і двохосновний фосфат натрію (0,98 г) розчиняють у 20 мл води і нагрівають до 30°C до повного розчинення. Додають 5-бром-2-хлорбензолсульфонілхлорид (2 г) і реакційну суміш нагрівають до 60°C протягом ночі. Реакційну суміш охолоджують і додають 1-бромметил-3-хлорбензол (1,4 г) по краплях у вигляді розчину у 20 мл ацетону. Суміш нагрівають до 60°C протягом 2 годин і доводять до кімнатної температури. Реакційну суміш струшують з EtOAc і водою і розділяють фази. Водну фазу промивають додатковим EtOAc. Об'єднані органічні фази промивають водою і сольовим розчином. Органічний шар сушать (MgSO_4), фільтрують і випарюють. Сирий залишок перекристалізують з EtOAc/гептану для одержання 4-бром-1-хлор-2-(3-хлорфенілметансульфоніл)бензолу (1,47 г). PX/MC: $R_T=2,8$ хв., MC: 379 (M+Na), ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 4,37 (с, 2H), 6,70 (уш.с, 1H), 7,15-7,35 (м, 6H), 7,73 (д, $J=2$ Гц, 1H).

Стадія 2. До розчину 4-бром-1-хлор-2-(3-хлорфенілметансульфоніл)бензолу (1 г), 1-(трет-бутоксикарбоніл)індол-2-ілборонової кислоти (1 г) і цезію фториду (0,6 г) у 22 мл 10:1 діоксан:води додають $\text{PdCl}_2(\text{dppf})_2$ (0,216 г) при кімнатній температурі у присутності азоту. Реакційну суміш нагрівають до 80°C протягом ночі. Після охолодження реакційну суміш виливають у воду і екстрагують EtOAc. Органічну фазу концентрують і додають гептан для одержання осаду, який фільтрують. Фільтрат пропускають через шар силікагелю і потім випарюють на силікагелі. Сирий матеріал очищують флеш-хроматографією на силікагелі (EtOAc/гептан) для одержання трет-бутилового ефіру 2-[4-хлор-3-(3-хлорфенілметансульфоніл)феніл]індол-1-карбонової кислоти (0,84 г). PX/MC: $R_T=3,42$ хв., MC: 516 (M+Na).

Стадія 3. Трифтороцтову кислоту (10 мл) додають до трет-бутилового ефіру 2-[4-хлор-3-(3-хлорфенілметансульфоніл)феніл]індол-1-карбонової кислоти (0,79 г) і одержаний розчин перемішують протягом 35 хв. при кімнатній температурі. Суміш концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають 10% NaHCO_3 . Органічний шар сушать (MgSO_4), фільтрують, ви-

парюють на силікагелі і очищають флеш-хроматографією на силікагелі (EtOAc/гептан) для одержання

2-[4-хлор-3-(3-хлорфенілметансульфоніл)феніл]-1H-індолу (0,49 г). PX/MC: $R_T=3$ хв., MC: 416 (M+Na).

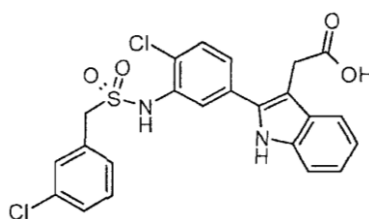
Стадія 4. До суспензії 2-[4-хлор-3-(3-хлорфенілметансульфоніл)феніл]-1H-індолу (0,48 г) у 25 мл Et₂O додають по краплях оксалілхлорид (0,22 г) при кімнатній температурі. Через 7 годин додають додаткову кількість оксалілхлориду (0,22 г) і суміш перемішують протягом ночі. Додають по краплях метанол (2 мл) і суміш перемішують протягом 10 хв. Реакційну суміш виливають у воду і екстрагують EtOAc. Органічну фазу промивають водним розчином NaHCO₃ і сольовим розчином. Органічний шар сушать (Na₂SO₄), фільтрують і випарюють на силікагелі. Сирий матеріал очищають флеш-хроматографією на силікагелі (EtOAc/гептан) для одержання метилового ефіру {2-[4-хлор-3-(3-хлорфенілметансульфоніл)феніл]-1H-індол-3-іл}оксооцтової кислоти (0,43 г). PX/MC: $R_T=2,73$ хв., MC: 502 (M+Na).

Стадія 5. Триетилсилан (0,23 г) додають по краплях до розчину метилового ефіру {2-[4-хлор-3-(3-хлорфенілметансульфоніл)феніл]-1H-індол-3-іл}оксооцтової кислоти (0,5 г) у 10 мл трифтороцтової кислоти. Після перемішування протягом 5 годин реакційну суміш концентрують при зниженому тиску. Залишок струшують з EtOAc і насиченою NaHCO₃. Органічну фазу випарюють на силікагелі і очищають флеш-хроматографією на силікагелі (EtOAc/гептан) для одержання метилового ефіру {2-[4-хлор-3-(3-хлорфенілметансульфоніл)феніл]-1H-індол-3-іл}оцтової кислоти (0,34 г). PX/MC: $R_T=2,86$ хв., MC: 488 (M+Na).

Стадія 6. До розчину метилового ефіру {2-[4-хлор-3-(3-хлорфенілметансульфоніл)феніл]-1H-індол-3-іл} оцтової кислоти (0,3 г) у 14 мл 3:3:1 THF:MeOH:H₂O додають гідроксид літію (0,077 г). Розчин перемішують при температурі 80°C протягом ночі. Розчинник видаляють при зниженому тиску і до залишку додають 10% водного розчину HCl. Водну фазу двічі екстрагують EtOAc. Об'єднані органічні фази сушать (MgSO₄), фільтрують і випарюють для одержання {2-[4-хлор-3-(3-хлорфенілметансульфоніл)феніл]-1H-індол-3-іл} оцтової кислоти (210 мг). PX/MC: $R_T=2,43$ хв., MC: 474,1 (M+Na). ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO) δ 3,61 (с, 2H), 4,97 (с, 2H), 7,08 (т, J=7,2 Гц, 1H), 7,21 (м, 2H), 7,34-7,44 (м, 4H), 7,57 (д, J=7,9 Гц, 1H), 7,95-8,05 (м, 2H), 8,37 (д, J=2 Гц, 1H), 11,58 (с, 1H), 12,43 (с, 1H). IC₅₀=106nM.

Приклад 16

{2-[4-Хлор-3-(3-хлорфенілметансульфоніламіно)феніл]-1H-індол-3-іл}оцтова кислота



Стадія 1. До гідрохлоридної солі 5-бром-2-хлорфеніламіну (0,81 г) у 20 мл DCM додають Et₃N (0,85 г) і розчин охолоджують до 0°C. Порціями додають 3-хлорфенілметансульфонілхлорид (0,75 г) у вигляді розчину у 5 мл DCM. Суміш нагрівають до кімнатної температури і перемішують протягом ночі. Розчинник видаляють при зниженому тиску і залишок повторно розчиняють в EtOAc. EtOAc екстрагують 10% водною HCl, насиченою Na₂CO₃ і сольовим розчином. Органічний шар сушать (MgSO₄), фільтрують, випарюють на силікагелі і очищають флеш-хроматографією на силікагелі (EtOAc/гептан) для одержання N-(5-бром-2-хлорфеніл)-C-(3-хлорфеніл)метансульфонамід (1,56 г). PX/MC: $R_T=2,77$ хв., MC: 394 (M+Na).

Стадія 2. До розчину N-(5-бром-2-хлорфеніл)-C-(3-хлорфеніл)метансульфонамід (0,6 г), 1-(трет-бутоксикарбоніл)індол-2-ілборонової кислоти (0,6 г) і цезію фториду (0,35 г) у 10:1 діоксан:воді (11 мл) додають PdCl₂(dppf)₂ (0,125 г) у присутності азоту. Суміш нагрівають до 80°C протягом 3 годин. Після охолодження реакційну суміш виливають у воду і екстрагують EtOAc. Органічну фазу концентрують і додають гептан для одержання осаду, який фільтрують. Фільтрат пропускають через шар силікагелю і випарюють на силікагелі. Сирий матеріал очищають флеш-хроматографією на силікагелі (EtOAc/гептан) для одержання трет-бутилового ефіру 2-[4-хлор-3-(3-хлорфенілметансульфоніл)аміно]феніліндол-1-карбонової кислоти (0,73 г). PX/MC: $R_T=3,36$ хв., MC: 531 (M+Na).

Стадія 3. Трифтороцтову кислоту (10 мл) додають до трет-бутилового ефіру 2-[4-хлор-3-(3-хлорфенілметансульфоніламіно)феніл]індол-1-карбонової кислоти (0,70 г) і одержаний розчин перемішують при кімнатній температурі протягом 1 години. Суміш концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в EtOAc і промивають 10% NaHCO₃. Органічну фазу сушать (MgSO₄), випарюють на силікагелі і очищають флеш-хроматографією на силікагелі (EtOAc/гептан) для одержання N-[2-хлор-5-(1H-індол-2-іл)феніл]-C-(3-хлорфеніл)метансульфонамід (0,56 г). PX/MC: $R_T=2,93$ хв., MC: 431 (M+Na).

Стадія 4. До суспензії N-[2-хлор-5-(1H-індол-2-іл)феніл]-C-(3-хлорфеніл)метансульфонамід (0,51 г) у 30 мл DCM додають по краплях оксалілхлорид (0,23 г) при кімнатній температурі. Після перемішування протягом 2 годин додають по краплях метанол (2 мл) і суміш перемішують протягом 10 хв. Реакційну суміш потім випарюють на силікагелі і очищають флеш-хроматографією на силікагелі (EtOAc/гептан) для одержання метилового ефіру {2-[4-хлор-3-(3-хлорфенілметансульфоніламіно)феніл]-1H-індол-

3-іл}оксооцтової кислоти (0,46 г). РХ/МС: $R_T=2,67$ хв., МС: 517 (М+Na).

Стадія 5. Триетилсилан (0,19 г) додають по краплях до розчину метилового ефіру {2-[4-хлор-3-(3-хлорфенілметансульфоніламіно)феніл]-1H-індол-3-іл}оксо-оцтової кислоти (0,42 г) у 10 мл трифтороцтової кислоти. Суміш перемішують протягом 6 годин. Додають додаткову кількість триетилсилану (0,1 г) і розчин перемішують протягом ночі при кімнатній температурі. Суміш потім концентрують при зниженому тиску і залишок струшують з EtOAc і насиченою NaHCO_3 . Органічну фазу випарюють на силікагелі і очищають флеш-хроматографією на силікагелі (EtOAc/гептан) для одержання метилового ефіру {2-[4-хлор-3-(3-хлорфенілметансульфоніламіно)феніл]-1H-індол-3-іл}оцтової кислоти (0,3 г). РХ/МС: $R_T=2,86$ хв., МС: 503 (М+Na).

Стадія 6. До розчину метилового ефіру {2-[4-хлор-3-(3-хлорфенілметан-сульфоніламіно)феніл]-1H-індол-3-іл}оцтової кислоти (0,24 г) у 3:3:1 THF:MeOH:H₂O (14 мл) додають гідроксид літію (0,041 г). Розчин перемішують при температурі 80°C протягом ночі. Додають додатково 2 еквіваленти гідроксиду літію і продовжують нагрівання протягом 6 годин до завершення реакції. Розчинник видаляють при зниженому тиску і до залишку додають 10% водного розчину HCl. Суміш двічі екстрагують EtOAc. Об'єднані органічні фази сушать (MgSO_4), фільтрують, випарюють на силікагелі і очищають флеш-хроматографією на силікагелі (EtOAc/гептан) для одержання {2-[4-хлор-3-(3-хлорфенілметан-сульфоніламіно)феніл]-1H-індол-3-іл}оцтової кислоти (186 мг). РХ/МС: $R_T=2,53$ хв., МС: 489 (М+Na). ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO) δ 3,78 (с, 2H), 4,67 (с, 2H), 7,07 (т, J=7,2 Гц, 1H), 7,19 (т, J=7,3 Гц, 1H), 7,40-7,46 (м, 4H), 7,51 (с, 1H), 7,57 (м, 2H), 7,70 (д, J=8,2 Гц, 1H), 7,83 (с, 1H), 9,75 (с, 1H), 11,44 (с, 1H), 12,44 (с, 1H). $\text{IC}_{50}=12$ нМ.

Фармакологічний аналіз

Інгібіторну дію сполук, що складають предмет даного винаходу, оцінюють за допомогою функціонального аналізу на простагландин D людини. Застосовується аналіз цАМФ з використанням лінії клітин людини LS174T, що експресують ендогенний рецептор простагландину D. Протокол аналогічний описаному раніше (Wright DH, Ford-Hutchinson AW, Chadee K, Metters KM, The human prostanoid DP receptor stimulates mucin secretion in LS174T cells, Br J Pharmacol. 131(8): 1537-45 (2000)).

Протокол SPA-аналізу цАМФ у клітинах LS174T людини

Матеріали

- PGD2 (Cayman Chemical, кат. № 12010)
- IBMX (Sigma кат. № 5879)
- Система прямого скринінгового SPA-аналізу цАМФ (код Amersham RPA 559)
- 96-ямкові планшети для клітинних культур (Wallac кат. № 1450-516)
- Сцинтиляційний лічильник Wallac 1450 Microplate Trilux (PerkinElmer)
- Пристосування для заклеювання планшетів
- Центрифугові пробірки Eppendorf

- Фізіологічний розчин у фосфатному буфері (PBS) Дульбекко (Invitrogen кат. № 14040-133)

- Дистильована вода

- Струшувач

- Магнітна мішалка і набір якорів

Підготовка реактивів:

Перед розбавленням всі реагенти повинні бути доведені до кімнатної температури.

Аналітичний буфер 1X

Переносять вміст пляшки у 500-мл мензурку багаторазовим промиванням дистильованою водою. Доводять повний об'єм до 500 мл, додавши дистильовану воду, і ретельно перемішують.

Лізуючий реагент 1 і 2

Розчиняють кожний з лізуючих реагентів 1 і 2 у 200 мл аналітичного буфера, відповідно. Залишають на 20 хвилин при кімнатній температурі для розчинення.

Гранули антитіл кролика для SPA-аналізу

Додають у пляшку 30 мл лізуючого буфера 2. Обережно струшують пляшку протягом 5 хвилин.

Імунна сироватка

Додають 15 мл лізуючого буфера 2 у кожну посудину і обережно перемішують вміст до повного розчинення.

Маркер (I^{125} -цАМФ)

Додають 14 мл лізуючого буфера 2 у кожну посудину і обережно перемішують вміст до повного розчинення.

Підготовка імунореактиву

1. Додають рівні об'єми маркера, імунної сироватки і SPA-реагенту антитіл кролика у посудину, слідкуючи за тим, щоб був приготований достатній об'єм для потрібної кількості ямок (150 мкл на ямку).

2. Ретельно перемішують.

3. Обов'язково готують свіжий розчин імунореактиву перед кожним аналізом і не використовують його повторно.

Стандарт

1. Додають 1 мл лізуючого буфера 1 і обережно перемішують вміст до повного розчинення.

2. Кінцевий розчин містить цАМФ у концентрації 512 пмоль/мл.

3. Мітять 7 поліпропіленових або полістирольних пробірок 0,2 пмоль, 0,4 пмоль, 0,8 пмоль, 1,6 пмоль, 3,2 пмоль, 6,4 пмоль і 12,8 пмоль.

4. Піпеткою додають 500 мкл лізуючого буфера 1 у всі пробірки.

5. У пробірку 12,8 пмоль додають піпеткою 500 мкл вихідного розчину стандарту (512 пмоль/мл) і ретельно перемішують. Переносять 500 мкл з пробірки 12,8 пмоль у пробірку 6,4 пмоль і ретельно перемішують. Повторюють процедуру розбавлення двічі з іншими пробірками.

6. Порції по 50 мкл у двох екземплярах з кожного послідовного розбавлення і вихідний розчин стандарту дозволяють одержати 8 рівнів стандартів цАМФ у діапазоні від 0,2 до 25,6 пмоль.

Буфер розбавлення сполуки

Додають 50 мкл 1 мМ IBMX у 100 мл PBS для одержання кінцевої концентрації 100 мкМ і обробляють ультразвуком при 30°C протягом 20 хвилин.

Підготовка PGD2

Розчиняють 1 мг PGD2 (FW, 352.5) у 284 мкл DMSO для одержання вихідного розчину 10 мМ і зберігають його при 20°C. Перед кожним аналізом обов'язково готують свіжий розчин. Додають 3 мкл 10 мМ вихідного розчину у 20 мл ДМСО, ретельно перемішують і переносять 10 мл у 40 мл PBS.

Розбавлення сполуки

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

Переносять 45 мкл DMSO у планшет, крім колонки 7, куди додають 28 мкл ДМСО. Ретельно відміряють піпеткою 12 мкл вмісту колонки 1 і переносять їх у колонку 7. Виконують послідовне розбавлення 1:10 від колонки 1 до колонки 6 і від колонки 7 до колонки 11, переносячи від 5 мкл до 45 мкл ДМСО для одержання наведених нижче концентрацій:

Перший планшет	Кінцева концентрація
Колонка 12	0
Колонка 11	0,03 мкМ
Колонка 10	0,3 мкМ
Колонка 9	3 мкМ
Колонка 8	0,03 мМ
Колонка 7	0,3 мМ
Колонка 6	0,01 мкМ
Колонка 5	0,1 мкМ
Колонка 4	1 мкМ
Колонка 3	0,01 мМ
Колонка 2	0,1 мМ
Колонка 1	1 мМ

Додають у новий 96-ямковий планшет 247,5 мкл буфера розбавлення сполуки. Переносять 2,5 мкл послідовно розбавлених сполук з приготованого вище планшета у новий (розбавлення 1:100) наступним чином:

Перший планшет	Другий планшет	Кінцева концентрація
Колонка 12	Колонка 1	0
Колонка 6	Колонка 2	0,1 нМ
Колонка 11	Колонка 3	0,3 нМ
Колонка 5	Колонка 4	1 нМ
Колонка 10	Колонка 5	3 нМ
Колонка 4	Колонка 6	0,01 мкМ
Колонка 9	Колонка 7	0,03 мкМ
Колонка 3	Колонка 8	0,1 мкМ
Колонка 8	Колонка 9	0,3 мкМ
Колонка 2	Колонка 10	1 мкМ
Колонка 7	Колонка 11	3 мкМ
Колонка 1	Колонка 12	10 мкМ

Розбавлення сполуки проводять у Biomek 2000 (Beckman) за допомогою методу 11 точок 1_цАМФ DP.

5 мкл кожної сполуки з 10 мМ планшетів стандартних розчинів сполук переносять в ямки 96-ямкового планшета, як зазначено нижче.

Вирощування клітин

1. LSI74 T завжди вирощують у MEM (ATCC кат. № 30-2003), 10% FBS (ATCC кат. № 30-2020) і додаткових 2 мМ L-глутаміну, при 37°C і 5% CO₂.

2. Нагрівають 0,05% трипсину і версину (Invitrogen кат. № 25300-054) при 37°C на водяній бані.

3. Видаляють середовище для росту з клітин. Клітини у колбі T165 двічі промивають 4 мл трипсину, а потім інкубують при 37°C і 5% CO₂ протягом 3 хвилин.

4. Додають 10 мл середовища і піпеткою ретельно відділяють і перераховують клітини.

5. Доводять щільність клітин до $2,25 \times 10^5$ клітин на мл і висівають 200 мкл клітин на ямку (45000 клітин на ямку) у 96-ямковому планшеті за 1 день до аналізу.

Порядок проведення аналізу

День 1

Висівають 45000 клітин на ямку у 200 мкл середовища у 96-ямкових планшетах. Інкубують планшети з клітинами при 37°C, 5% CO₂ і 95% вологості протягом ночі.

День 2

1. Виконують розбавлення сполук.

2. Готують аналітичний буфер, лізуючі буфери 1 і 2, PGD2 і стандарт.

3. Видаляють середовище з клітин аспіратором і додають 100 мкл розчину сполуки, дотримуючись протоколу цАМФ DP Zymark Sciclone-ALH/FD.

4. Інкубують клітини при 37°C, 5% CO₂ і 95% вологості протягом 15 хвилин.

5. Додають 5 мкл 300 нМ PGD2 (20x15 нМ кінцевої концентрації) у кожен ямку відповідно до протоколу Zymark цАМФ DP PGD2 та інкубують клітини при 37°C, 5% CO₂ і 95% вологості ще 15 хвилин.

6. Видаляють середовище з клітин аспіратором і додають 50 мкл лізуючого буфера 1 відповідно до протоколу Zymark цАМФ DP лізису та інкубують при кімнатній температурі зі струшуванням протягом 30 хвилин.

7. Додають у всі ямки 150 мкл імунореагенту (повний об'єм 200 мкл на ямку).

8. Герметизують планшет, струшують протягом 2 хвилин і вміщують у камеру сцинтиляційного лічильника для мікротитрувальних планшетів Wallac на 16 годин.

День 3

Проводять підрахунок кількості [^{125}I] цАМФ протягом 2 хвилин у сцинтиляційному лічильнику 1450 Trilux.

Обробка даних Відкладають стандартну залежність цАМФ від кількості імпульсів за хвилину.

Таблиця

Типові дані аналізу для стандарту

цАМФ (пмоль/мл)	Імп./хв.		Сер. імп./хв.
0,2	5725	5769	5530
0,4	5367	5259	6317
0,8	4695	4796	6507
1,6	4251	4178	6581
3,2	3434	3429	6601
6,4	2758	2716	6711
12,8	2094	2054	6680
25,6	1531	1573	6653

Концентрації цАМФ (пмоль/мл) невідомих зразків обчислюють за стандартною залежністю цАМФ від кількості імпульсів за хвилину. Процент інгібування обчислюють за наведеною нижче формулою:

$$\% \text{ інгібування} = \frac{(\text{пмоль у контрольному зразку} - \text{пмоль у зразку}) \times 100}{\text{пмоль у контрольному зразку (тільки клітини + PGD2)}}$$

Здійснення даного винаходу можуть приймати інші конкретні форми, які не будуть зачіпати суті винаходу або його основних положень.