



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 92180

(13) C2

(51) МПК (2009)

C07D 409/04 (2006.01)

A61K 31/4184 (2006.01)

A61P 35/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) СПОЛУКИ БЕНЗІМІДАЗОЛТІОФЕНУ

1

2

(21) a200802657

(22) 28.08.2006

(24) 11.10.2010

(86) PCT/US2006/033683, 28.08.2006

(31) 60/714,337

(32) 06.09.2005

(33) US

(31) 60/786,244

(32) 27.03.2006

(33) US

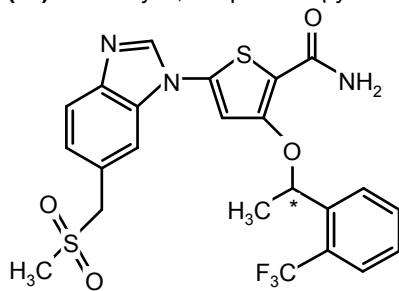
(46) 11.10.2010, Бюл.№ 19, 2010 р.

(72) ЧХИН МИЙ, US, ЕММИТТ КАЙЛ АЛЛЕН, US,
САЛОВІЧ ДЖЕЙМЗ МАЙКЛ, US

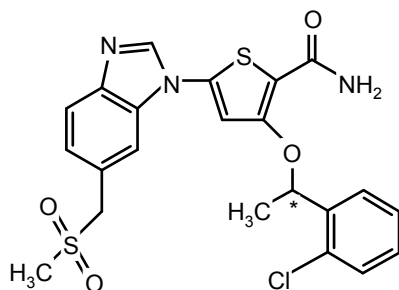
(73) СМІТКЛЯЙН БІЧАМ КОРПОРЕЙШН, US

(56) WO 2004014899 (A1) 19.02.2004

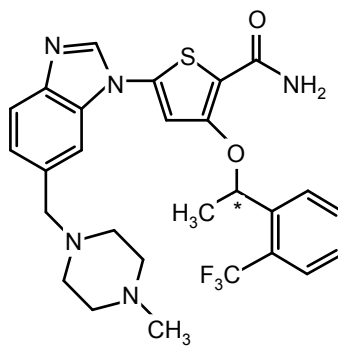
(57) 1. Сполука, вибрана із групи:



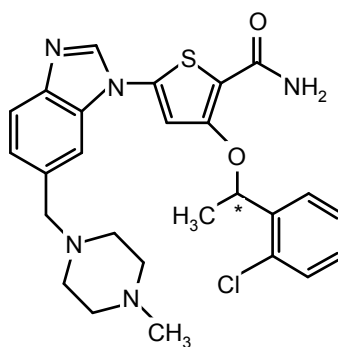
A



B



C



D

(13) C2

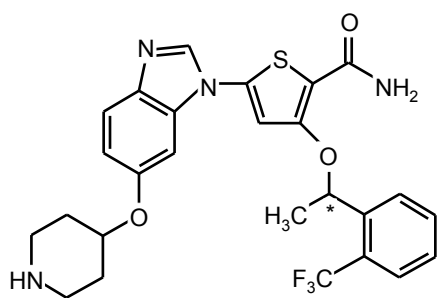
(11) 92180

(19) UA

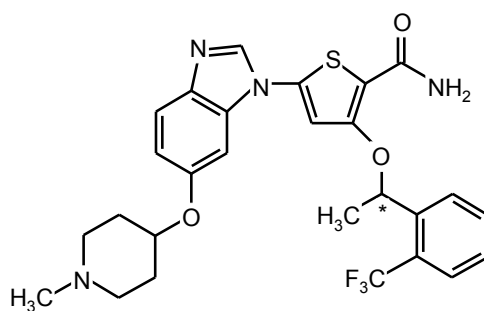
3

92180

4

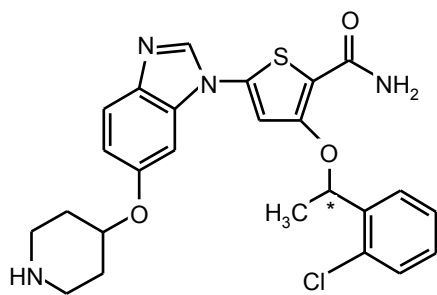


E

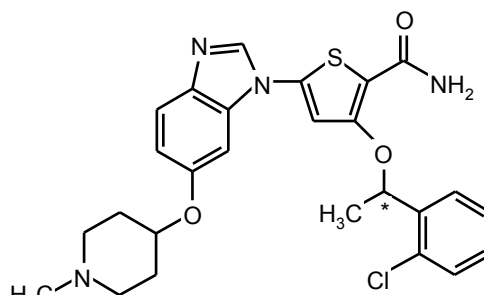


G

та



F



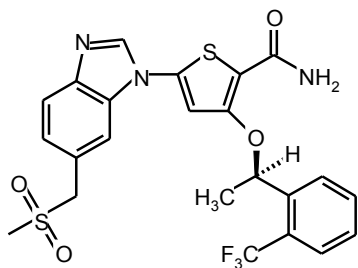
H

де * позначає хіральний карбон;

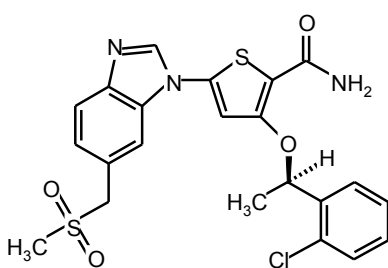
та її фармацевтично прийнятні солі та сольвати.

2. Сполука за п. 1, де стереохімія хірального карбону - R.

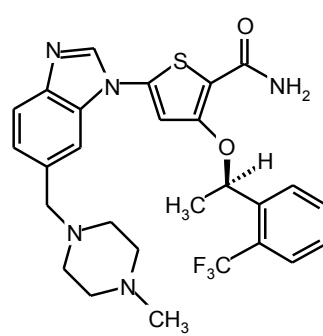
3. Сполука за п. 1, що містить більше 50 % за масою енантіомера, вибраного з формули A-1, B-1, C-1, D-1, E-1, F-1, G-1 та H-1:



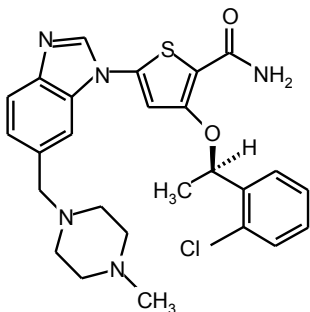
A-1



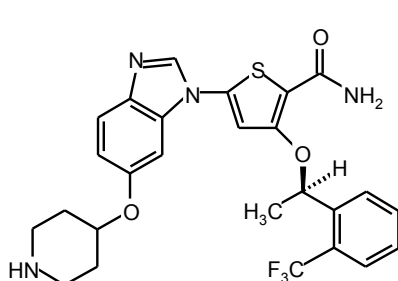
B-1



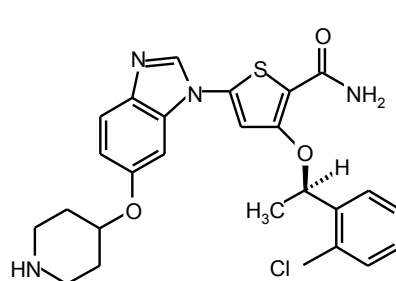
C-1



D-1



E-1

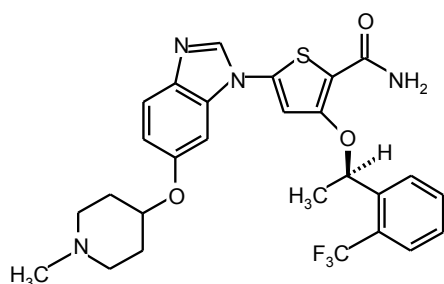


F-1

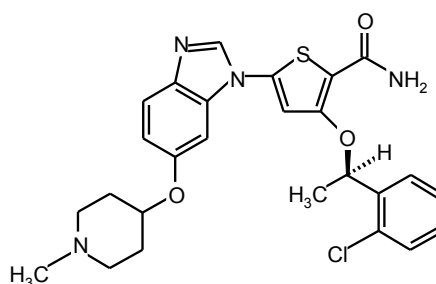
5

92180

6

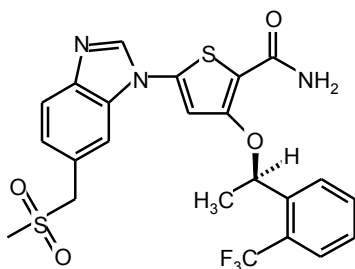


G-1

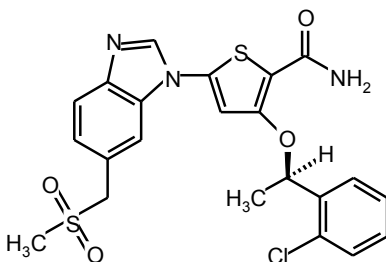


H-1

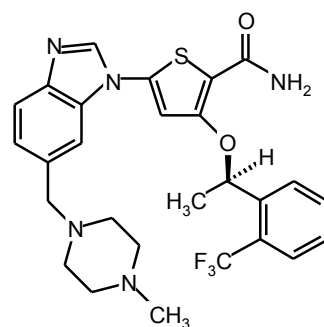
4. Енантімерно чиста сполука, вибрана з формули A-1, B-1, C-1, D-1, E-1, F-1, G-1 та H-1:



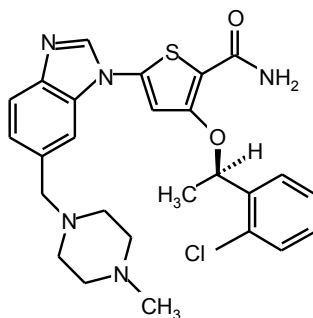
A-1



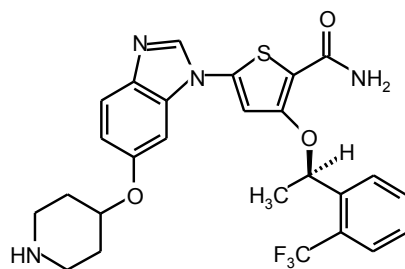
B-1



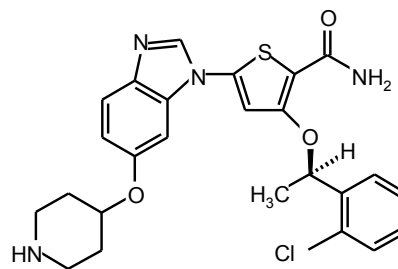
C-1



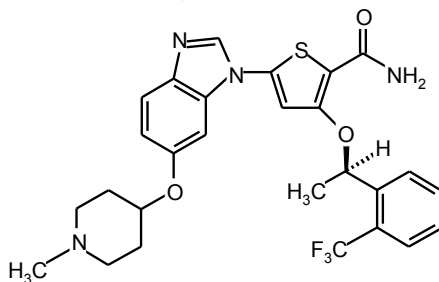
D-1



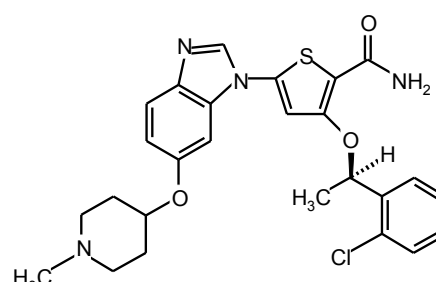
E-1



F-1



G-1



H-1

та її фармацевтично прийнятні солі та сольвати.

5. Фармацевтична композиція, що містить сполуку за п. 1 та фармацевтично прийнятний носій, розріджувач або наповнювач.

6. Фармацевтична композиція за п. 5, що містить, крім того, хіміотерапевтичний засіб.

7. Спосіб лікування чутливої неоплазми в ссавця, який цього потребує, в якому вводять ссавцю терапевтично ефективну кількість сполуку за п. 1.

8. Спосіб за п. 7, де названу чутливу неоплазму вибрано із групи: рак грудної залози, рак ободової кишки, дрібноклітинний рак легенів, недрібноклітинний рак легенів, рак простати, рак ендометрія, рак шлунка, меланома, рак яєчника, рак підшлункової залози, плоскоклітинна карцинома, карцинома голови та шиї, карцинома стравоходу, гепатоцелюлярна карцинома та гематологічні злоякісні хвороби.

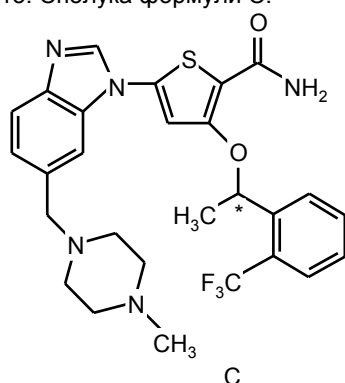
9. Спосіб за п. 1, де названу чутливу неоплазму вибрано із групи: рак грудної залози, рак яєчника, недрібноклітинний рак легенів, рак простати та гематологічні злоякісні хвороби.

10. Спосіб лікування стану, охарактеризованого невідповідною проліферацією клітин у ссавця, який цього потребує, в якому вводять ссавцю терапевтично ефективну кількість сполуки за п. 1.

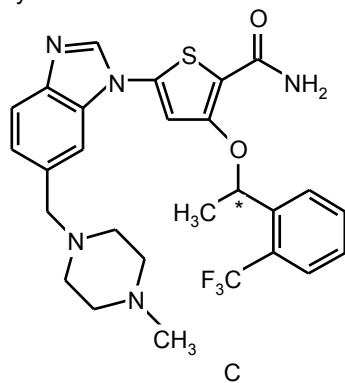
11. Спосіб інгібування проліферації клітини, в якому вводять у контактування клітину з кількістю сполуки за п. 1, достатньою для інгібування проліферації клітини.

12. Спосіб інгібування мітозу в клітині, названий спосіб полягає в застосуванні до клітини кількості сполуки за п. 1, достатньої для інгібування мітозу в клітині.

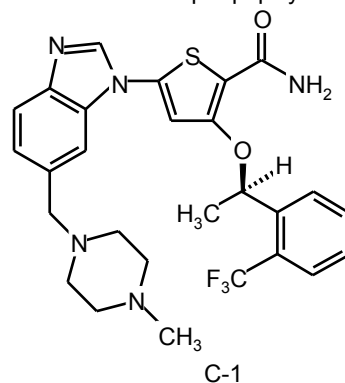
13. Сполука формули C:



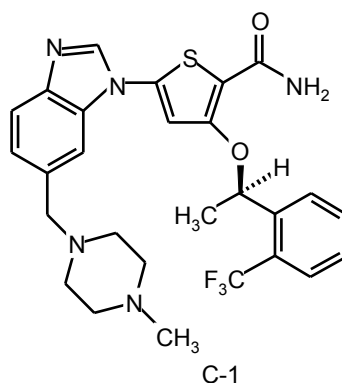
14. Фармацевтично прийнятна сіль сполуки формули C:



15. Сполука за п. 13, що містить більше 50 % за масою енантіомера формули C-1:

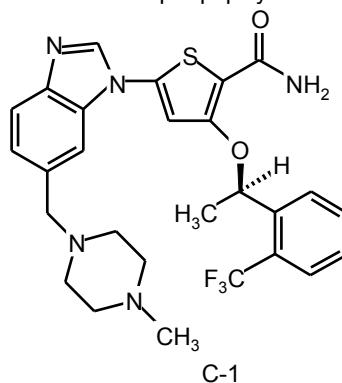


16. Енантімерно чиста сполука формули C-1:

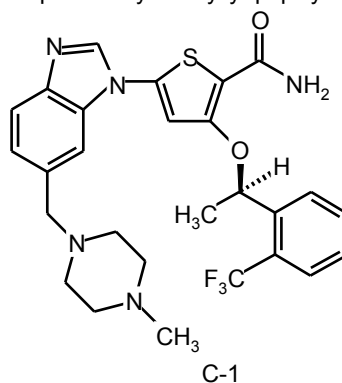


17. Фармацевтична композиція, що містить сполуку за п. 13.

18. Фармацевтична композиція, що містить сполуку за п. 13, де сполука містить більше 50 % за масою енантіомера формули C-1:



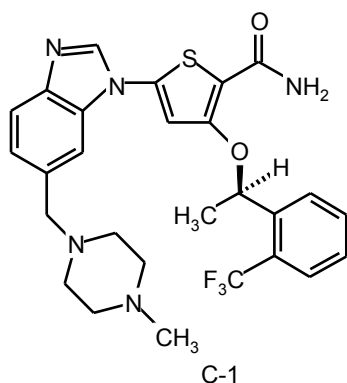
19. Фармацевтична композиція, що містить енантімерно чисту сполуку формули C-1:



20. Спосіб лікування чутливої неоплазми в ссавця, який цього потребує, в якому вводять ссавцю терапевтично ефективну кількість сполуки за п. 13.

21. Спосіб за п. 20, де названу чутливу неоплазму вибрано із групи: рак грудної залози, рак ободової кишки, дрібноклітинний рак легенів, недрібноклітинний рак легенів, рак простати, рак ендометрія, рак шлунка, меланома, рак яєчника, рак підшлункової залози, плоскоклітинна карцинома, карцинома голови та шиї, карцинома стравоходу, гепатоцелюлярна карцинома та гематологічні злоякісні хвороби.

22. Спосіб за п. 20, де названа сполука містить більше 50 % за масою енантіомера, що має абсолютну стереохімію формули C-1:

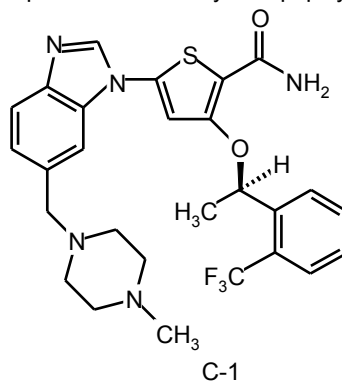


23. Спосіб лікування наступного: рак грудної залози, рак яєчника, недрібноклітинний рак легенів, рак простати, рак шлунка, карцинома голови та шиї або гематологічна злоякісна хвороба, в ссавця, який цього потребує, в якому вводять ссавцю терапевтично ефективну кількість сполуки за п. 13.

24. Спосіб лікування наступного: рак грудної залози, рак яєчника, недрібноклітинний рак легенів, рак

простати, рак шлунка, карцинома голови та шиї або гематологічна злоякісна хвороба, в ссавця, який цього потребує, в якому вводять ссавцю терапевтично ефективну кількість сполуки за п. 15.

25. Спосіб за п. 24, де названа сполука є енантимерно чистою сполукою формули C-1:



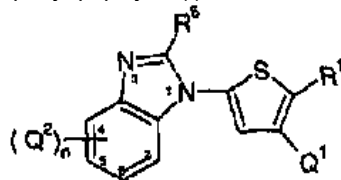
Заявлений винахід стосується нових сполук бензімідазолтіофену, фармацевтичних композицій, що містять ці сполуки, та застосування цих сполук у терапії.

Полоподібні кінази ("PLK") є еволюційно збереженими серин/треонін-кіназами, які грають важливу роль у процесах регулювання в клітинному циклі. PLK грає роль у входженні в мітоз та виході з мітозу в різних організмах від дріжджів до клітин ссавців. PLK охоплює PLK1, PLK2, PLK3 та PLK4.

Виявляється, що PLK1 є сильно асоційованими з неопластичними клітинами (охоплюючи карциноми). Опубліковане дослідження показало високі рівні експресії PLK1 РНК в >80% пухлин легенів та грудних залоз із малою експресією до відсутності експресії в суміжну нормальну тканину. Декілька досліджень показали кореляцію між експресією PLK, гістологічним рівнем та прогнозом у декількох типах раку. Значні кореляції знаходили між процентами PLK-позитивними клітинами та гістологічним рівнем оваріального та ендометріального раку ($P < 0,001$). У цих дослідженнях помічали, що PLK сильно експресується в клітинах, уражених ендометріальною карциномою, і це може відображати ступінь злоякісності хвороби та проліферації ендометріальної карциноми. При застосуванні аналізу RT-PCR виявляли зверхекспресію PLK в 97% карцином стравоходу та 73% карцином шлунку в порівнянні з відповідними нормальними тканинами. Далі, пацієнти з високим рівнями зверхекспресії PLK при карциномі стравоходу представляють групу з істотно гіршим прогнозом ніж ті, у яких низькі рівні зверхекспресії PLK. При раках голови та шиї в найбільшій кількості пухлин спостерігали підвищену мРНК-експресію PLK1; аналіз Каплана-Мейєра показав, що ці пацієнти з помірними рівнями експресії PLK1 жили довше ніж пацієнти з високими рівнями експресії PLK1. Дослі-

дження пацієнтів з недрібноклітинною карциномою легенів показало подібні результати стосовно експресії PLK1.

Публікація PCT No.WO2004/014899 SmithKline Beecham розкриває нові сполуки бензімідазолтіофену формули (I):



де:

R¹ вибрано із групи: H, алкіл, алкеніл, алкініл, -C(O)R⁷, -CO₂R⁷, -C(O)NR⁷R⁸, -C(O)N(R⁷)OR⁸, -C(O)N(R⁷)-R²-OR⁸, -C(O)N(R⁷)-Ph, -C(O)N(R⁷)-R²-Ph, -C(O)N(R⁷)C(O)R⁸, -C(O)N(R⁷)CO₂R⁸, -C(O)N(R⁷)C(O)NR⁷R⁸, -C(O)N(R⁷)S(O)₂R⁸, -R²-OR⁷, -R²-O-C(O)R⁷, -C(S)R⁷, -C(S)NR⁷R⁸, -C(S)N(R⁷)-Ph, -C(S)N(R⁷)-R²-Ph, -R²-SR⁷, -C(=NR⁷)NR⁷R⁸, -C(=NR⁷)N(R⁸)-Ph, -C(=NR⁷)N(R⁸)-R²-Ph, -R²-NR⁷R⁸, -CN, -OR⁷, -S(O)₂R⁷, -S(O)₂NR⁷R⁸, -S(O)₂N(R⁷)-Ph, -S(O)₂N(R⁷)-R²-Ph, -NR⁷R⁸, N(R⁷)-Ph, -N(R⁷)-R²-Ph, -N(R⁷)-SO₂R⁸ та Het;

Ph - феніл, необов'язково заміщений 1-3 рази замісником, вибраним із групи: галоген, алкіл, -OH, -R²-OH, -O-алкіл, -R²-O-алкіл, -NH₂, -N(H)алкіл, -N(алкіл)₂, -CN та -N₃;

Het - 5-7-членний гетероцикл, що має 1, 2, 3 або 4 гетероатоми, вибрані з N, O та S, або 5-6-членний гетероарил, що має 1, 2, 3 або 4 гетероатоми, вибрані з N, O та S, кожний необов'язково заміщений 1-3 рази замісником, вибраним із групи: галоген, алкіл, оксо, -OH, -R²-OH, -O-алкіл, -R²-O-алкіл, -NH₂, -N(H)алкіл, -N(алкіл)₂, -CN та -N₃;

Q¹ - група формули: -(R²)_a-(Y¹)_b-(R²)_c-R³

a, b та c є однаковими або різними, та кожне незалежно дорівнює 0 або 1 та, принаймні, один з a або b дорівнює 1;

n дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4;

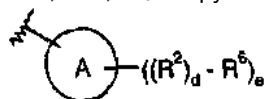
Q^2 - група формули: $-(R^2)_{aa}(Y^2)_{bb}-(R^2)_{cc}-R^4$, або дві суміжні групи Q^2 вибрано із групи: алкіл, алкеніл, $-OR^7$, $-S(O)_iR^7$ та $-NR^7R^8$, та разом з атомами карбону, до якого вони приєднані, утворюють C_{5-6} циклоалкіл, C_{5-6} циклоалкеніл, феніл, 5-7-членний гетероцикл, що має 1 або 2 гетероатоми, вибрані з N, O та S, або 5-6-членний гетероарил, що має 1 або 2 гетероатоми, вибрані з N, O та S;

aa, bb та cc є однаковими або різними, та кожний незалежно дорівнює 0 або 1;

кожна Y^1 та Y^2 є однаковою або відмінною, та є незалежно вибраною із групи: $-O-$, $-S(O)_i$, $-N(R^7)-$, $-C(O)-$, $-OC(O)-$, $-CO_2-$, $-C(O)N(R^7)-$, $-C(O)N(R^7)S(O)_2-$, $-OC(O)N(R^7)-$, $-OS(O)_2-$, $-S(O)_2N(R^7)-$, $-S(O)_2N(R^7)C(O)-$, $-N(R^7)S(O)_2-$, $-N(R^7)C(O)-$, $-N(R^7)CO_2-$ та $-N(R^7)C(O)N(R^7)-$;

кожна R^2 є однаковою або відмінною та є незалежно вибраною із групи: алкілен, алкенілен та алкінілен;

кожна R^3 та R^4 є однаковою або відмінною та кожна є незалежно вибраною із групи: H, галоген, алкіл, алкеніл, алкініл, $-C(O)R^7$, $-C(O)NR^7R^8$, $-CO_2R^7$, $-C(S)R^7$, $-C(S)NR^7R^8$, $-C(=NR^7)R^8$, $-C(=NR^7)NR^7R^8$, $-CR^7=N-OR^7$, $-OR^7$, $-S(O)_iR^7$, $-S(O)_2NR^7R^8$, $-NR^7R^8$, $-N(R^7)C(O)R^8$, $-N(R^7)S(O)_2R^8$, $-NO_2$, $-CN$, $-N_3$ та групи формули (ii):



де:

Кільце A вибрано із групи: C_{5-10} циклоалкіл, C_{5-10} циклоалкеніл, арил, 5-10-членний гетероцикл, що має 1, 2 або 3 гетероатоми, вибрані з N, O та S, та 5-10-членний гетероарил, що має 1, 2 або 3 гетероатоми, вибрані з N, O та S

кожне d дорівнює 0 або 1;

e дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4;

кожна R^6 є однаковою або відмінною та є незалежно вибраною із групи: H, галоген, алкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, циклоалкеніл, Ph, Het, -

$CH(OH)-R^2-OH$, $-C(O)R^7$, $-CO_2R^7$, $-CO_2-R_2-Ph$, $-CO_2-R^2-Het$, $-C(O)NR^7R^8$, $-C(O)N(R^7)C(O)R^7$, $-C(O)N(R^7)CO_2R^7$, $-C(O)N(R^7)C(O)NR^7R^8$, $-C(O)N(R^7)S(O)_2R^7$, $-C(S)R^7$, $-C(S)NR^7R^8$, $-C(=NR^7)R^8$, $-C(=NR^7)NR^7R^8$, $-CR^7=N-OR^8$, $=O$, $-OR^7$, $-OC(O)R^7$, $-OC(O)Ph$, $-OC(O)Het$, $-OC(O)NR^7R^8$, $-O-R^2-S(O)_2R^7$, $-S(O)_iR^7$, $-S(O)_2NR^7R^8$, $-S(O)_2Ph$, $-S(O)_2Het$, $-NR^7R^8$, $-N(R^7)C(O)R^8$, $-N(R^7)CO_2R^8$, $-N(R^7)-R^2-CO_2R^8$, $-N(R^7)C(O)NR^7R^8$, $-N(R^7)-R^2-C(O)NR^7R^8$, $-N(R^7)C(O)Ph$, $-N(R^7)C(O)Het$, $-N(R^7)Ph$, $-N(R^7)Het$, $-N(R^7)C(O)NR^7-R^2-NR^7R^8$, $-N(R^7)C(O)N(R^7)Ph$, $-N(R^7)C(O)N(R^7)Het$, $-N(R^7)C(O)N(R^7)-R^2-Het$, $-N(R^7)S(O)_2R^8$, $-N(R^7)-R^2-S(O)_2R^8$, $-NO_2$, $-CN$ та $-N_3$;

де, коли Q^1 визначено за умови, що b дорівнює 1 та c дорівнює 0, R^3 не є галогеном, $-C(O)R^7$, $-C(O)NR^7R^8$, $-CO_2R^7$, $-C(S)R^7$, $-C(S)NR^7R^8$, $-C(=NR^7)R^8$, $-C(=NR^7)NR^7R^8$, $-CR^7=N-OR^7$, $-OR^7$, $-S(O)_iR^7$, $-S(O)_2NR^7R^8$, $-NR^7R^8$, $-N(R^7)C(O)R^8$, $-N(R^7)S(O)_2R^8$, $-NO_2$, $-CN$ або $-N_3$;

де, коли Q^2 визначено за умови, що bb дорівнює, та cc дорівнює 0, R^4 не є галогеном, $-C(O)R^7$, $-C(O)NR^7R^8$, $-CO_2R^7$, $-C(S)R^7$, $-C(S)NR^7R^8$, $-C(=NR^7)R^8$, $-C(=NR^7)NR^7R^8$, $-CR^7=N-OR^7$, $-OR^7$, $-S(O)_iR^7$, $-S(O)_2NR^7R^8$, $-NR^7R^8$, $-N(R^7)C(O)R^8$, $-N(R^7)S(O)_2R^8$, $-NO_2$, $-CN$ або $-N_3$;

R^5 вибрано із групи: H, галоген, алкіл, циклоалкіл, OR^7 , $-S(O)_iR^7$, $-NR^7R^8$, $-NHC(O)R^7$, $-NHC(O)NR^7R^8$ та $-NHS(O)_2R^7$;

f дорівнює 0, 1 або 2; та

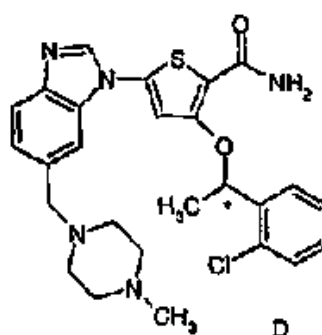
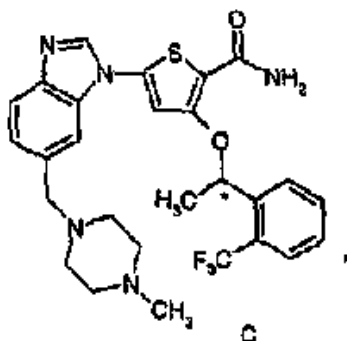
кожна R^7 та кожне R^8 є однаковими або різними, та кожну незалежно вибрано із групи: H, алкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл та циклоалкеніл;

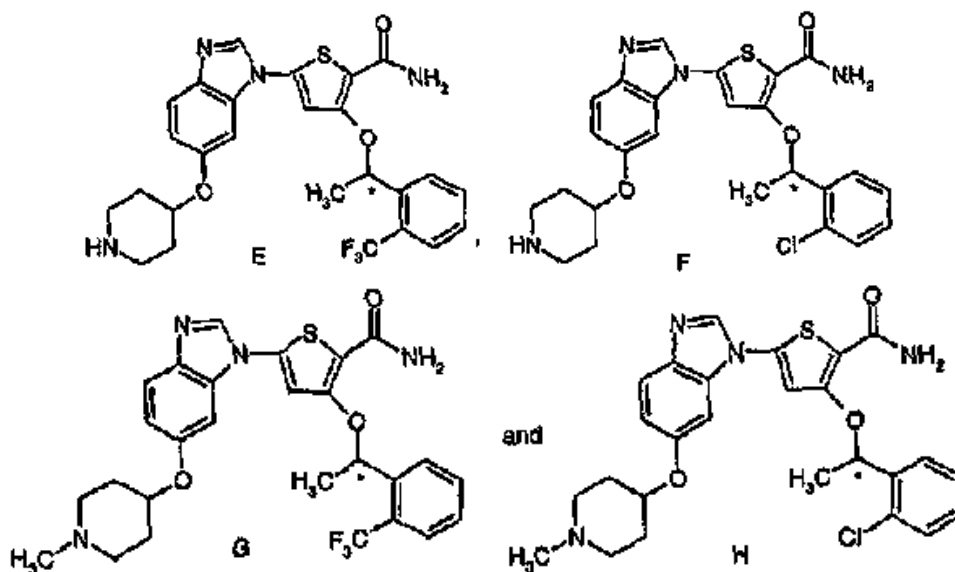
де, коли R^1 - $-CO_2CH_3$ та n дорівнює 0, Q^1 не є $-OH$;

або її фармацевтично прийнятну сіль, сольват або фізіологічно функціональне похідне.

Також розкрито фармацевтичні композиції, що містять ці сполуки, способи їх отримання та способи лікування станів, опосередкованих PLK, при застосуванні цих сполук.

Згідно з першим підходом винаходу запропоновано сполуку, вибрану з:





де * позначає хіральний карбон;
та її фармацевтично прийнятні солі або сольвати.

Згідно із ще одним підходом запропоновано енантимерно збагачену сполуку, вибрану з A, B, C, D, E, F, G, та H, де стереохімія хірального карбону - R.

Згідно із третім підходом винаходу запропоновано фармацевтичну композицію, що містить сполуку, вибрану з A, B, C, D, E, F, G та H та її фармацевтично прийнятні солі або сольвати. В одному втіленні фармацевтична композиція далі охоплює фармацевтично прийнятний носій, розріджувач або наповнювач.

Згідно із четвертим підходом винаходу запропоновано спосіб при необхідності лікування стану ссавця, опосередкованого PLK. Спосіб полягає в застосуванні до ссавця терапевтично ефективної кількості сполуки, вибраної з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятних солей або сольватів.

Згідно з п'ятим підходом винаходу запропоновано спосіб при необхідності лікування чутливої неоплазми в ссавця. Спосіб полягає в застосуванні до ссавця терапевтично ефективної кількості сполуки, вибраної з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятних солей або сольватів. Чутливу неоплазму можна вибирати із групи: рак грудних залоз, рак ободової кишки, рак легенів, охоплюючи дрібноклітинний рак легенів та недрібноклітинний рак легенів, рак простати, рак ендометрію, рак шлунку, меланома, рак яєчника, рак підшлункової залози, плоскоклітинна карцинома, карцинома голови та шиї, карцинома стравоходу, гепатоцелюлярна карцинома, та гематологічні злоякісні хвороби, як-то гостра лейкемія та активна лімфома.

Згідно із шостим підходом винаходу запропоновано спосіб при необхідності лікування раку грудних залоз у ссавця. Спосіб полягає в застосуванні до ссавця терапевтично ефективної кількості сполуки, вибраної з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятних солей або сольватів.

Згідно із сьомим підходом винаходу, запропоновано спосіб при необхідності лікування раку яєчника в ссавця. Спосіб полягає в застосуванні до ссавця терапевтично ефективної кількості сполуки, вибраної з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятних солей або сольватів.

Згідно з восьмим підходом винаходу, запропоновано спосіб при необхідності лікування недрібноклітинного раку легенів у ссавця. Спосіб полягає в застосуванні до ссавця терапевтично ефективної кількості сполуки, вибраної з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятних солей або сольватів.

Згідно з дев'ятим підходом винаходу запропоновано спосіб при необхідності лікування раку простати в ссавця. Спосіб полягає в застосуванні до ссавця терапевтично ефективної кількості сполуки, вибраної з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятних солей або сольватів.

Згідно з десятим підходом винаходу запропоновано спосіб при необхідності лікування гематологічної злоякісної хвороби в ссавця. Спосіб полягає в застосуванні до ссавця терапевтично ефективної кількості сполуки, вибраної з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятних солей або сольватів.

Згідно із ще одним підходом винаходу, запропоновано спосіб лікування стану, який охарактеризовано невідповідною клітинною проліферацією. Спосіб полягає в контактуванні клітини з терапевтично ефективною кількістю сполуки, вибраної з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятних солей або сольватів.

Згідно із ще одним підходом у заявленому винаході запропоновано спосіб інгібування проліферації клітини. Спосіб полягає в контактуванні клітини з кількістю сполуки, вибраної з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятних солей або сольватів.

Згідно із ще одним підходом у заявленому винаході запропоновано спосіб інгібування мітозу в клітині. Спосіб полягає в застосуванні до клітини кількості сполуки, вибраної з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятних солей або сольватів.

H, та її фармацевтично прийнятних солей або сольватів.

Згідно із ще одним підходом заявлений винахід пропонує сполуку, вибрану з A, B, C, D, E, F, G та H та її фармацевтично прийнятні солі або сольвати для застосування в терапії.

У ще одному підході згідно із заявленим винаходом запропоновано сполуку, вибрану з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятні солі або сольвати для застосування при необхідності в лікуванні стану, опосередкованого PLK у ссавця.

У ще одному підході згідно із заявленим винаходом запропоновано сполуку, вибрану з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятні солі або сольвати для застосування в лікуванні чутливої неоплазми в ссавця.

У ще одному підході згідно із заявленим винаходом запропоновано сполуку, вибрану з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятні солі або сольвати для застосування в лікуванні наступного: рак грудних залоз, рак яєчника, недрібноклітинний рак легенів, рак простати, або гематологічна злоякісність у ссавця.

У ще одному підході згідно із заявленим винаходом запропоновано сполуку, вибрану з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятні солі або сольвати для застосування в лікуванні стану, який охарактеризовано невідповідною клітинною проліферацією.

У ще одному підході згідно із заявленим винаходом запропоновано сполуку, вибрану з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятні солі або сольвати для застосування в інгібуванні проліферації клітини.

У ще одному підході згідно із заявленим винаходом запропоновано сполуку, вибрану з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятні солі або сольвати для застосування в інгібуванні мітозу в клітині.

У ще одному підході згідно із заявленим винаходом запропоновано застосування сполуки, вибраної з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятних солей або сольватів для отримання медикаменту для лікування стану, опосередкованого PLK у ссавця.

У ще одному підході згідно із заявленим винаходом запропоновано застосування сполуки, вибраної з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятних солей або сольватів для отримання медикаменту для лікування чутливої неоплазми в ссавця.

У ще одному підході згідно із заявленим винаходом запропоновано застосування сполуки, вибраної з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятних солей або сольватів для отримання медикаменту для лікування наступного: рак грудних залоз, рак яєчника, недрібноклітинний рак легенів, рак простати або гематологічна злоякісність у ссавця.

У ще одному підході згідно із заявленим винаходом запропоновано застосування сполуки, вибраної з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятних солей або сольватів для отримання медикаменту для лікування стану, який охарактеризовано невідповідною клітинною проліферацією.

ризовано невідповідною клітинною проліферацією в ссавця.

У ще одному підході згідно із заявленим винаходом запропоновано застосування сполуки, вибраної з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятних солей або сольватів для отримання медикаменту для інгібування проліферації клітини.

У ще одному підході згідно із заявленим винаходом запропоновано застосування сполуки, вибраної з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятних солей або сольватів для отримання медикаменту для інгібування мітозу в клітині.

У ще одному підході згідно із заявленим винаходом запропоновано фармацевтичну композицію, що містить сполуку, вибрану з A, B, C, D, E, F, G та H, та її фармацевтично прийнятні солі або сольвати для застосування в лікуванні чутливої неоплазми, як-то рак грудних залоз, рак яєчника, недрібноклітинний рак легенів, рак простати, та гематологічні злоякісні хвороби в ссавця.

Як тут застосовано, "сполука(и) винаходу" або "сполука(и), вибрана з A, B, C, D, E, F, G та H" означає сполуку(и), вибрану з A, B, C, D, E, F, G та H, або енантіомерно збагачену сполуку(и), вибрану з A, B, C, D, E, F, G та H, або фармацевтично прийнятну сіль або сольват.

Як тут застосовано, "сполука(и), вибрана з A-1, B-1, C-1, D-1, E-1, F-1, G-1 та H-1" означає сполуку(и), вибрану з A-1, B-1, C-1, D-1, E-1, F-1, G-1 та H-1 або фармацевтично прийнятну сіль або сольват.

Як тут застосовано, термін "необов'язково" означає, що пізніше описана подія(ї) може відбуватися або може не відбуватися, та охоплює подію(ї), що відбувається та події, що не відбуваються.

Сполуки винаходу існують у формах стереоізомерів (наприклад, вони охоплюють один або більше хіральних або асиметричних атомів карбону). Термін "хіральна" стосується молекули, що не є суперпозиційною з її дзеркальним відображенням. Термін "ахіральна" стосується молекули, що є суперпозиційною з її дзеркальним відображенням.

Термін "стереоізомери" стосується сполук, що мають однаковий хімічний склад, але відрізняються в розміщенні атомів або груп у просторі. Стереоізомери можуть бути оптичними або геометричними ізомерами. Оптичні ізомери охоплюють енантіомери та діастереомери. "Енантіомер" - один із пари оптичних ізомерів, що містить хіральний атом карбону, у якого молекулярна конфігурація має лівобічну та правобічну (хіральні) форми. Тобто, "енантіомер" стосується кожного з пари оптичних ізомерів сполуки, котрий є несуперпозиційним дзеркальним відображенням один одного. "Діастереомер" є одним із пари оптичних ізомерів сполуки із двома або більше центрами асиметрії, та чиї молекули не є дзеркальними відображеннями один одного. Найменування хірального центру скеровано системою (R)-(S). Конкретне позначення сполуки як енантіомеру "R" або "S" відповідно до систем залежить від природи атомів або груп, котрі зв'язані з хіральним карбоном.

Енантіомери відрізняються поведінкою стосовно плоскополяризованого світла, тобто, оптичною

активністю. Енантіомер, що обертає плоскополяризоване світло по годинній стрілці називають обертовим вправо та позначають символом "d" або "(+)" для позитивної ротації. Енантіомер, що обертає плоскополяризоване світло проти руху годинникової стрілки називають обертовим уліво та позначають символом "l" або "(-)" для негативної ротації. Відсутня кореляція між конфігурацією енантіомерів та напрямом обертання плоскополяризованого світла. Також не є необхідною кореляція між позначенням (R) та (S) та напрямом ротації плоскополяризованого світла. Оптична активність або напрямі ротації плоскополяризованого світла енантіомеру сполуки винаходу можна визначати, застосовуючи звичайну техніку.

Терміни "рацемат" та "рацемічна суміш", як тут застосовано, стосуються суміші (R)- та (S)- оптичних ізомерів сполуки (наприклад, енантіомерів) у рівній кількості, тобто пропорції 50:50.

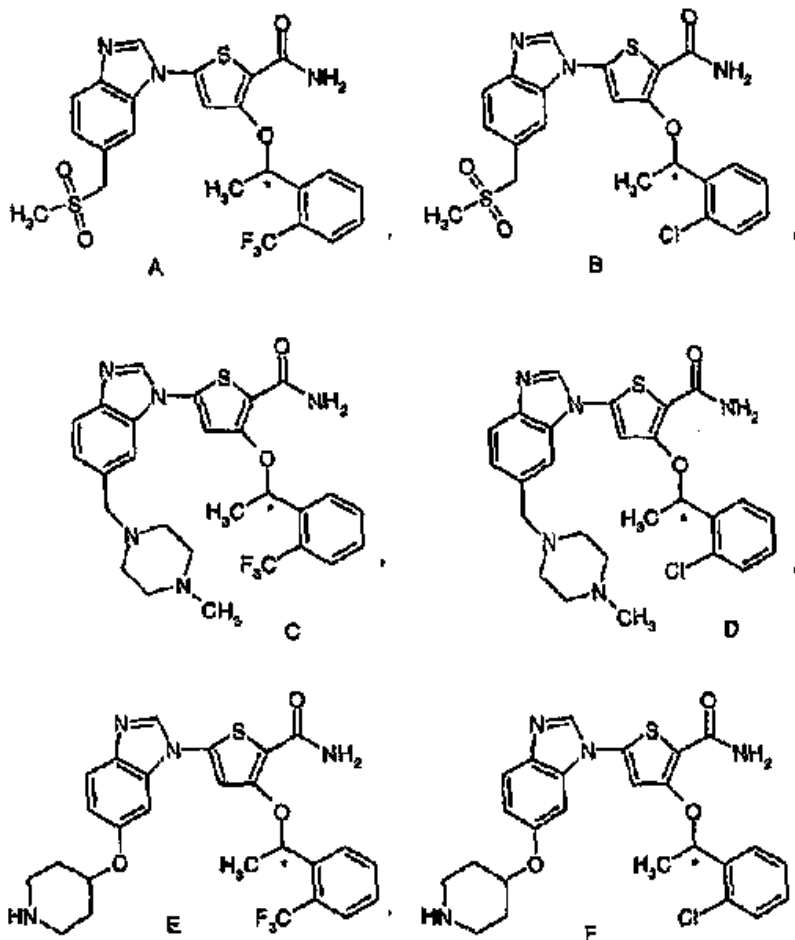
Термін "енантіомерно збагачена", як тут застосовано, стосується препаратів, що містять суміш оптичних ізомерів, у котрій кількість одного енантіомеру більше кількості іншого. Отже, "енантіомерно збагачена" стосується сумішей оптичних ізомерів, де співвідношення енантіомерів є більшим ніж 50:50. Енантіомерно збагачена сполука містить більше ніж 50% за масою одного енантіомеру сто-

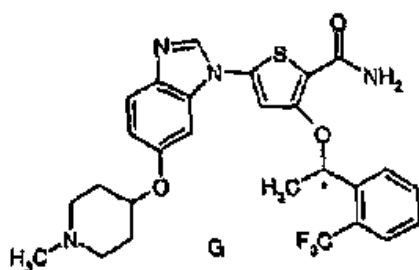
совно іншого. Наприклад, енантіомерно збагачений

5-{6-[(Метилсульфоніл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}-3-{{{(1R)-1-[2-(трифлуорометил)феніл]етил}окси)-2-тіофенкарбоксамід} стосується композиції, що містить більше ніж 50% за масою (R)-енантіомеру стосовно (S)-енантіомеру сполуки. В одному втіленні енантіомерно збагачена сполука містить, принаймні, 75% за масою одного енантіомеру стосовно іншого. У ще одному втіленні, енантіомерно збагачена сполука містить, принаймні, 80% за масою одного енантіомеру стосовно іншого. В одному конкретному втіленні енантіомерно збагачена сполука містить, принаймні, 85% за масою одного енантіомеру стосовно іншого.

Термін "енантіомерно чиста", як тут застосовано, стосується енантіомерно збагачених сполук, що містять, принаймні, 90% за масою одного енантіомеру стосовно іншого. В одному втіленні енантіомерно чиста сполука містить, принаймні, 95% за масою одного енантіомеру стосовно іншого. В одному конкретному втіленні енантіомерно чиста сполука містить, принаймні, 99% за масою одного енантіомеру стосовно іншого.

Згідно із заявленим винаходом запропоновано сполуки, вибрані з наступного:

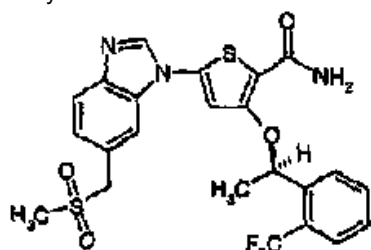




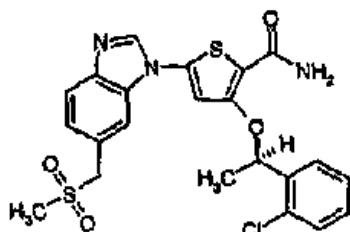
де * позначає хіральний карбон;
та її фармацевтично прийнятні солі та сольвати.

В одному конкретному утіленні сполуки А, В, С, D, E, F, G та H є енантімерно збагаченими, де стереохімія хірального карбону - R. У ще одному утіленні сполуки А, В, С, D, E, F, G та H є енантімерно чистими, де стереохімія хірального карбону - R.

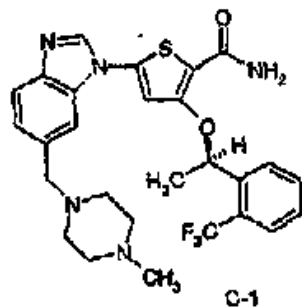
Отже, в одному переважному утіленні заявленого винаходу запропоновано енантімерно збагачені та енантімерно чисті сполуки, вибрані з наступного:



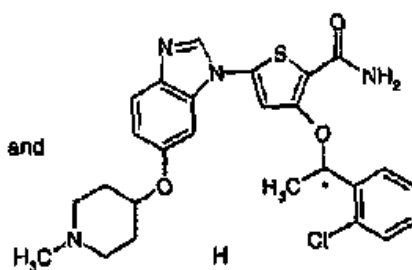
5-{6-[(Метилсульфоніл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]-етил)окси)-2-тіофенкарбоксамід;



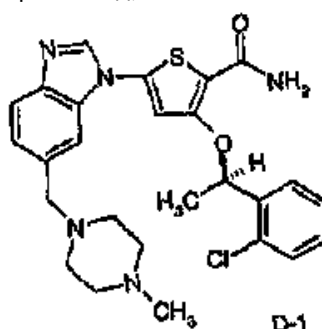
3-(((1R)-1-(2-Хлорфеніл)етил)окси)-5-{6-[(метилсульфоніл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}-2-тіофенкарбоксамід;



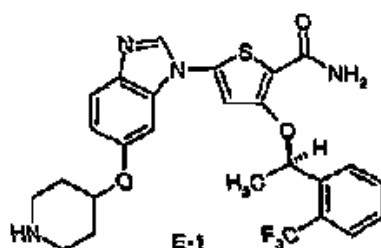
5-{6-[(4-Метилпіперазин-1-іл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}-3-(((1R)-1-[2-



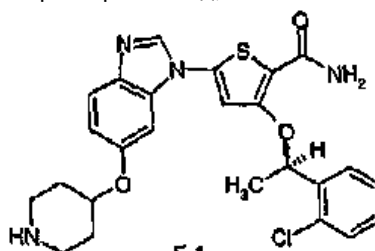
(трифлуорметил)феніл]етокси}тіофен-2-карбоксамід;



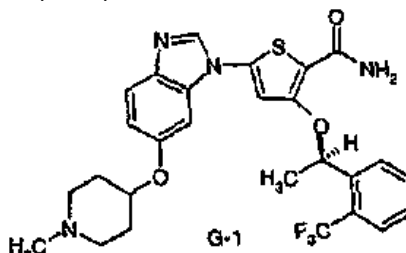
3-(((1R)-1-(2-Хлорфеніл)етил)окси)-5-{6-[(4-метилпіперазин-1-іл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}-тіофен-2-карбоксамід;



5-{6-(4-Піперидинілокси)-1H-бензімідазол-1-іл}-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксамід;

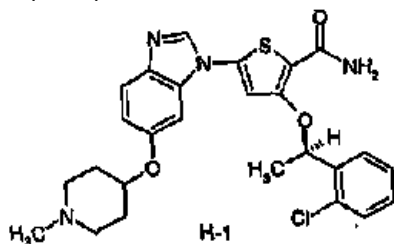


3-(((1R)-1-(2-Хлорфеніл)етил)окси)-5-{6-(4-піперидинілокси)-1H-бензімідазол-1-іл}-2-тіофенкарбоксамід;



5-{6-[(1-Метил-4-піперидиніл)окси]-1H-бензімідазол-1-іл}-3-(((1R)-1-[2-

(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксамід; та



3-[[[(1R)-1-(2-Хлорфеніл)етил)окси]-5-(6-[(1-метил-4-піперидиніл)окси]-1Н-бензімідазол-1-іл)-2-тіофенкарбоксамід; та її фармацевтично прийнятні солі та сольвати.

Спеціалісту в рівні техніки слід розуміти, що сполуки заявленого винаходу можна застосовувати у формі їх фармацевтично прийнятної солі або сольвату. Фармацевтично прийнятні солі сполук заявленого винаходу (або їх енантімерно збагачені або чисті форми) охоплюють обумовлені солі, утворені з фармацевтично прийнятних неорганічних або органічних кислот або основ, а також четвертинних солей амонію. Більш конкретні приклади солей придатної кислоти охоплюють солі хлоридної, бромідної, сульфатної, фосфатної, нітратної, перхлоратної, фумарової, оцтової, пропіонової, бурштинової, гліколевої, мурашиної, молочної, малеїнової, винної, лимонної, пальмітинової, маленової, гідроксималеїнової, фенілоцтової, глутамінової, бензойної, саліцилової, фумарової, толуолсульфаної, метансульфаної (месилат), нафталін-2-сульфаної, бензолсульфаної, гідроксинафтоїної, йодидної, яблучної, стеронової, дубільної кислот та подібне. Інші кислоти, як-то щавлева, що самі не є фармацевтично прийнятними, можуть бути корисними в отриманні солей, корисних як інтермедіати в отриманні сполук винаходу та їх фармацевтично прийнятних солей. Конкретні приклади придатних основних солей охоплюють солі наступного: натрій, літій, калій, магній, алюміній, кальцій, цинк, N,N-дибензилетилендіамін, хлорпрокаїн, холін, діетаноламін, етилендіамін, N-метилглюкамін та прокаїн.

Термін "сольват", як тут застосовано, стосується комплексу змінної стехіометрії, утвореного розчиною речовиною (сполукою винаходу або енантімерно збагаченою, або чистою її формою) та розчинником. Розчинники у вигляді прикладу охоплюють воду, метанол, етанол, або оцтову кислоту.

Способи отримання фармацевтично прийнятної солі та сольватів сполук винаходу визначено в рівні техніки. Дивись, наприклад, Burger's Medicinal Chemistry та Drug Discovery 5th Edition, Vol 1: Principles and Practice.

Як є очевидним спеціалісту в рівні техніки, в описаних нижче способах отримання сполук винаходу, певні інтермедіати, альтернативно можуть бути у формі фармацевтично прийнятних солей або сольватів сполуки. Ті терміни, які вживали до будь-якого інтермедіату, застосованого в способі отримання сполук винаходу, мають ті ж самі зна-

чення, які визначено вище, стосовно сполук винаходу. Способи отримання фармацевтично прийнятних солей та сольватів таких інтермедіатів є відомими в рівні техніки та є аналогічними способу отримання фармацевтично прийнятних солей та сольватів сполук винаходу.

Сполуки заявленого винаходу є типовими інгібіторами PLK. Інгібітор PLK означає сполуку, котра показує pIK₅₀ більшу 6 в аналізі інгібування PLK, описаному нижче в прикладах, або IK₅₀ менше 10 мкмоль/л у метиленовому синьому, або аналізі інгібування зростання титру клітин Glo, описаних нижче в прикладах; найкращий інгібітор PLK - сполука, котра показує pIK₅₀ більше 7 або IK₅₀ менше 1 мкмоль/л, яка застосована в способах, описаних нижче в прикладах.

Згідно із заявленим винаходом запропоновано сполуки винаходу для застосування в медичному лікуванні до тварини, наприклад, до ссавця, як-то людини. Зокрема, згідно із заявленим винаходом запропоновано сполуки для застосування в лікуванні стану, опосередкованого PLK. Згідно із заявленим винаходом також запропоновано сполуки для застосування в лікуванні чутливої неоплазми. Термін "чутлива неоплазма" розкрито нижче. Зокрема, згідно із заявленим винаходом запропоновано сполуки для застосування в лікуванні різноманітних твердих пухлин, охоплюючи (але без обмеження) рак грудних залоз, рак яєчника, недрібноклітинний рак легенів, рак простати та гематологічні злоякісні хвороби, охоплюючи (але без обмеження) гостру (мієлоїдну та лімфатичну) лейкомію та агресивну лімфому.

Згідно із заявленим винаходом запропоновано сполуки для застосування в лікуванні стану, який охарактеризовано невідповідною клітинною проліферацією. Згідно із заявленим винаходом також запропоновано сполуки для застосування в інгібуванні проліферації клітини. Згідно із заявленим винаходом також запропоновано сполуки для застосування в інгібуванні мітозу в клітині.

Згідно із заявленим винаходом запропоновано способи лікування декількох станів або хвороб, усі з яких містять етап застосування терапевтично ефективною кількістю сполуки винаходу. Як тут застосовано, термін "лікування" стосується полегшення конкретного стану, усунення або послаблення симптомів стану, уповільнення або усунення прогресування стану, та попередження або затримання повторення стану в раніше ураженого хворобою суб'єкту.

Як тут застосовано, термін "терапевтично ефективна кількість" означає кількість сполуки винаходу, котра при її призначенні є достатньою за умови виявлення біологічного або медичного відгуку клітинної культури, тканини, системи, тварини (охоплюючи людину), знайденого, наприклад, дослідником або лікарем-клініцистом. Наприклад, терапевтично ефективна кількість сполуки винаходу для лікування стану, опосередкованого PLK, є кількістю, достатньою для лікування опосередкованого PLK стану в суб'єкта. Подібно, терапевтично ефективна кількість сполуки винаходу для лікування чутливої неоплазми є кількістю, достатньою для лікування чутливої неоплазми в суб'єкта. В

одному втіленні заявленого винаходу терапевтично ефективна кількість сполуки винаходу є кількістю, достатньою для інгібування мітозу клітини. В одному втіленні заявленого винаходу терапевтично ефективна кількість сполуки винаходу є кількістю, достатньою для регулювання, модулювання, зв'язування або інгібування PLK.

Точна терапевтично ефективна кількість сполуки винаходу повинна залежати від численних факторів, охоплюючи (але без обмеження), вік та масу суб'єкта, якого лікують, точність діагностування розладу, що потребує лікування, та його важкість, природу композиції, та шлях застосування, та, зрештою, повинна залежати від розсуду лікаря та ветеринара. Типово, сполуку винаходу слід надавати для лікування в діапазоні 0,1 - 200мг/кг маси тіла реципієнта (тварини) на добу або на дозу, або на цикл лікування, та краще - у діапазоні 1 - 100мг/кг маси тіла на добу або на дозу, або на цикл лікування.

Прийнятні дозування, можуть бути приблизно 0,1 - 2000 мг на добу, дозу або цикл лікування, та краще - приблизно, 0,1 - 500 мг на добу, дозу або цикл лікування.

В одному підході згідно із заявленим винаходом запропоновано способи регулювання, модулювання, зв'язування, або інгібування PLK для лікування станів, опосередкованих PLK, конкретно PLK1. "Регулювання, модулювання, зв'язування або інгібування PLK" стосується регулювання, модулювання, зв'язування або інгібування активності PLK, конкретно PLK1, а також регулювання, модулювання, зв'язування або інгібування зверхекспресії PLK, конкретно PLK1. Такі стани охоплюють певні неоплазми (охоплюючи раки та пухлини), котрі асоційовано з PLK, конкретно PLK1, та стан, який охарактеризовано невідповідною клітинною проліферацією.

Згідно із заявленим винаходом запропоновано спосіб лікування стану, опосередкованого PLK, конкретно PLK1, котрий полягає в застосуванні до тварини терапевтично ефективної кількості сполуки винаходу. Цей спосіб та інші способи заявленого винаходу є корисними для лікування тварини, як-то ссавця та, зокрема, людей. Стані, котрі опосередковано PLK, є відомими в рівні техніки та охоплюють (але без обмеження) неоплазми та стани, які охарактеризовано невідповідною клітинною проліферацією.

Згідно із заявленим винаходом також запропоновано при необхідності спосіб лікування чутливої неоплазми (раку або пухлини) у тварини, як-то ссавець (наприклад, людина), цей спосіб полягає в застосуванні до тварини терапевтично ефективної кількості сполуки винаходу. "Чутлива неоплазма", як тут застосовано, стосується неоплазм, котрі є чутливими до лікування інгібітором PLK. Неоплазми, котрі асоційовано з PLK, і тому є чутливими до лікування інгібітором PLK, є відомими в рівні техніки та охоплюють первинні та метастатичні пухлини та раки. Наприклад, чутливі неоплазми в межах заявленого винаходу охоплюють (але без обмеження) наступне: рак грудних залоз, рак ободової кишки, рак легенів (охоплюючи дрібноклітинний рак легенів та недрібноклітинний рак легенів), рак

простати, рак ендометрію, рак шлунку, меланома, рак яєчника, рак підшлункової залози, плоскоклітинна карцинома, карцинома голови та шиї, карцинома стравоходу, гепатоцелюлярна карцинома та гематологічні злоякісні хвороби, охоплюючи (але без обмеження) гостру лейкемію та агресивну лімфому. В одному конкретному втіленні згідно із заявленим винаходом запропоновано спосіб лікування раку грудних залоз у тварини, як-то ссавець (наприклад, людина), при необхідності застосуванням терапевтично ефективної кількості сполуки заявленого винаходу. У ще одному конкретному втіленні заявленого винаходу запропоновано спосіб лікування рак яєчника у тварини, як-то ссавець (наприклад, людина), при необхідності застосуванням терапевтично ефективної кількості сполуки заявленого винаходу. У ще одному конкретному втіленні заявленого винаходу запропоновано спосіб лікування недрібноклітинного раку легенів у тварини, як-то ссавець (наприклад, людина), при необхідності застосуванням терапевтично ефективної кількості сполуки заявленого винаходу. У ще одному конкретному втіленні заявленого винаходу запропоновано спосіб лікування раку простати у тварини, як-то ссавець (наприклад, людина), при необхідності застосуванням терапевтично ефективної кількості сполуки заявленого винаходу. У ще одному конкретному втіленні заявленого винаходу запропоновано спосіб лікування гострої лейкемії, охоплюючи гостру мієлоїдну лейкемію та гостру лімфатичну лейкемію у тварини, як-то ссавець (наприклад, людина), при необхідності застосуванням терапевтично ефективної кількості сполуки заявленого винаходу. У ще одному конкретному втіленні заявленого винаходу запропоновано спосіб лікування агресивної лімфоми у тварини, як-то ссавець (наприклад, людина), при необхідності застосуванням терапевтично ефективної кількості сполуки заявленого винаходу.

У лікуванні таких чутливих неоплазм можна застосовувати тільки сполуки винаходу або для отримання додаткових або синергічних ефектів їх можна застосовувати з одною або більше іншими сполуками винаходу або в комбінації з певними існуючими хіміотерапіями та/або іншими протипухлинними лікуваннями. Крім того, сполуки винаходу можна застосовувати для відновлення ефективності одної або більше інших сполук винаходу певними існуючими хіміотерапіями та/або іншими протипухлинними лікуваннями. Як тут застосовано, "протипухлинні лікування" охоплюють (але без обмеження) цитотоксичну хіміотерапію, гормональне лікування, цільові інгібітори кінази, терапевтичні моноклональні антитіла, хірургічне та радіаційне лікування.

Згідно із заявленим винаходом також запропоновано при необхідності спосіб лікування стану, який охарактеризовано невідповідною клітинною проліферацією у тварини, як-то ссавець (наприклад, людина). Спосіб полягає в застосуванні терапевтично ефективної кількості сполуки заявленого винаходу. Під виразом "невідповідна клітинна проліферація" мають на увазі клітинну проліферацію, що виникає від невідповідного росту клітини, клітинної проліферації, що виникає від поділу клі-

тини, клітинну проліферацію, що виникає від поділу клітини при прискореній швидкості, клітинну проліферацію, що виникає від невідповідної довговічності клітини, та/або клітинну проліферацію в нормальній клітині, що відбувається з нормальною швидкістю, котра, однак, є небажаною. Стани, які охарактеризовано невідповідною клітинною проліферацією, охоплюють (але без обмеження) неоплазми, проліферативні розлади кровоносних судин, фіброзні розлади, мезангіальні клітинні проліферативні розлади та хвороби, опосередковані запаленням/імунною системою. Проліферативні розлади кровоносних судин охоплюють артрит та рестеноз. Фіброзні розлади охоплюють цироз печінки та атеросклероз. Мезангіальні клітинні проліферативні розлади охоплюють гломеруло-нефрит, зловісний нефросклероз та гломерулопатії. Розлади, опосередковані запаленням/імунною системою охоплюють псоріаз, лікування хронічного ураження, відторгнення трансплантованого органу, синдромів тромбонної мікроангіопатії та нейродегенеративних хвороб. Остеоартрит та інші залежні від проліферації остеобласту хвороби надлишкової резорбції кістки є прикладами станів, які охарактеризовано невідповідною клітинною проліферацією, при котрій клітинна проліферація відбувається в нормальній клітині при нормальній швидкості, але, однак, є небажаною.

Згідно із заявленим винаходом також запропоновано спосіб інгібування проліферації клітини, цей спосіб полягає в контактуванні клітини з кількістю сполуки винаходу, достатньою для інгібування проліферації клітини. В одному конкретному утіленні клітина є неопластичною клітиною. В одному конкретному утіленні клітина є неналежно проліферативною клітиною. Термін "неналежно проліферативна клітина", як тут застосовано, стосується клітин, що ростуть неналежно (аномально), клітин, що поділяються надмірно або із прискореною швидкістю, клітин, що неналежно (аномально) виживають та/або нормальних клітин, що проліферують при нормальній швидкості, але для котрих проліферація є небажаною. Непластичні клітини (охоплюючи ракові клітини) є прикладом неналежно проліферативних клітин, але не лише неналежно проліферативних клітин.

PLK є суттєвим для клітинного мітозу й, відповідно, вважається, що сполуки винаходу є ефективними для інгібування мітозу. "Інгібування мітозу" стосується інгібування входження у фазу М клітинного циклу, інгібування нормального розвитку М-фази клітинного циклу, як тільки М-фаза є досягнутою, та інгібування нормального виходу з М-фази клітинного циклу. Отже, сполуки заявлено-го винаходу можуть інгібувати мітоз інгібуванням входу клітин у мітоз, інгібуванням вступу клітин у мітоз або інгібуванням виходу клітин із мітозу. В одному підході згідно із заявленим винаходом запропоновано спосіб інгібування мітозу в клітині, цей спосіб полягає в застосуванні до клітини кількості сполуки винаходу, достатньої для інгібування мітозу. В одному конкретному утіленні клітина є неопластичною клітиною. В одному конкретному

утіленні клітина є невідповідно проліферативною клітиною.

Згідно із заявленим винаходом також запропоновано застосування сполуки винаходу для отримання медикаменту для лікування стану, опосередкованого PLK у тварини, як-то свавець (наприклад, людина). Заявлений і винахід далі пропонує застосування сполуки для отримання медикаменту для лікування чутливої неоплазми у тварини. Зокрема, згідно із заявленим винаходом запропоновано застосування сполуки для отримання медикаменту для лікування раку грудних залоз у тварини. Згідно із заявленим винаходом також запропоновано застосування сполуки для отримання медикаменту для лікування раку яєчника у тварини. Згідно із заявленим винаходом запропоновано застосування сполуки для отримання медикаменту для лікування недрібноклітинного раку легенів у тварини. Згідно із заявленим винаходом також запропоновано застосування сполуки для отримання медикаменту для лікування раку простати у тварини. Згідно із заявленим винаходом запропоновано застосування сполуки для отримання медикаменту для лікування гострої лейкемії (охоплюючи гостру мієлоїдну та гостру лімфатичну лейкемію) у тварини. Згідно із заявленим винаходом запропоновано застосування сполуки для отримання медикаменту для лікування агресивної лімфони у тварини. Згідно із заявленим винаходом запропоновано застосування сполуки для отримання медикаменту для лікування стану, який охарактеризовано невідповідною клітинною проліферацією. Згідно із заявленим винаходом запропоновано застосування сполуки для отримання медикаменту для інгібування проліферації клітини. Згідно із заявленим винаходом запропоновано застосування сполуки для отримання медикаменту для інгібування мітозу в клітині.

Якщо це можливо для застосування в терапії, терапевтично ефективну кількість сполуки винаходу можна застосовувати як сиру хімічну речову, що, звичайно, є присутньою як активна складова фармацевтичної композиції або композиції. Відповідно, згідно з винаходом далі запропоновано фармацевтичну композицію, що містить сполуку винаходу. Фармацевтична композиція може далі містити один або більше фармацевтично прийнятних носіїв, розріджувачів та/або наповнювачів. Носію(ї), розріджувачу(и) та/або наповнювачу(и) слід бути прийнятним у розумінні сумісності з іншими складовими композиції та нешкідливості для реципієнта. Згідно із ще одним підходом винаходу також запропоновано спосіб отримання фармацевтичної композиції, що охоплює суміш сполуки винаходу з одним або більше фармацевтично прийнятними носіями, розріджувачами та/або наповнювачами.

Фармацевтичні композиції можна надавати в одиничній формі дозування, що містить передбачену кількість активної складової на одиничну дозу. Така одинична доза може містити терапевтично ефективну дозу сполуки винаходу або таку долю терапевтично ефективної дози, що складені форми одиниць дозування, призначені в даний момент часу досягають бажаної терапевтично

ефективної дози. Кращі композиції одиниць дозування - ті, що містять добову дозу або суб-дозу, як тут цитовано вище, або відповідну частку активної складової. Крім того, такі фармацевтичні композиції можна отримувати будь-якими способами, добре відомими в рівні фармацевтичної техніки.

Фармацевтичні композиції можна пристосовувати для застосування будь-яким відповідним шляхом, наприклад, як-то пероральний (охоплюючи букальний або сублінгвальний), ректальний, назальний (охоплюючи букальний, сублінгвальний або трансдермальний), вагінальний або парентеральний (охоплюючи підшкірний, внутрішньом'язовий, внутрішньовенний або інтрадермальний) шлях. Такі композиції можна отримувати будь-яким способом, відомим у рівні фармацевтичної техніки, наприклад, поєднанням активної складової з носієм(ми) або наповнювачем(ми).

Фармацевтичні композиції, пристосовані для перорального застосування, можна надавати як роздільні одиниці як-то капсули або таблетки; порошки або гранули; розчини або суспензії у водних або неводних рідинах; харчові піни або збиті маси; або емульсії олія-у-воді або емульсії вода-в-олії. Наприклад, для перорального застосування у формі таблетки або капсули активний компонент ліків можна комбінувати з пероральним, нетоксичним фармацевтично прийнятним інертним носієм, як-то етанол, гліцерин, вода та подібне. Порошки отримували розтиранням сполуки придатного тонкого розміру та змішуванням із подібно розтертим фармацевтичним носієм, як-то харчовий вуглевод, як, наприклад, крохмаль або манітол. Також можуть бути присутніми ароматизатор, консервант, диспергувальний та фарбувальний засіб

Капсули робили отриманням порошкової суміші, як описано вище, та наповнювали утворені желатинові оболонки. Перед операцією наповнення до порошкової суміші можна додавати ковзні засоби та змащувачі, як-то колоїдний оксид силіцію, тальк, магній стеарат, кальцій стеарат або твердий поліетиленгліколь. Дезінтегрувальний або солюбілізувальний засіб, як-то агар-агар, кальцій карбонат або натрій карбонат також можна додавати для покращення придатності медикаменту при ковтанні капсули.

Крім того, коли бажано або потрібно, придатні зв'язувачі, змащувачі, дезінтегрувальні засоби та барвники також можна вводити в суміш. Придатні зв'язувачі охоплюють крохмаль, желатин, природні цукри, як-то глюкоза або бета-лактоза, зернові підсолоджувачі, природні та синтетичні смоли, як-то смола акації, трагакант або натрій альгінат, карбоксиметилцелюлоза, поліетиленгліколь, воски та подібне. Змащувачі, застосовані в цих формах дозування, охоплюють натрій олеат, натрій стеарат, магній стеарат, натрій бензоат, натрій ацетат, натрій хлорид та подібне. Дезінтегратори охоплюють, без обмеження, крохмаль, метилцелюлозу, агар, бентоніт, ксантан-смолу та подібне. Таблетки утворено, наприклад, отриманням порошкової суміші, гранулюванням або трамбуванням, додаванням змащувачу та дезінтегранту та пресуванням у таблетки. Порошкову суміш отримували змішуванням сполуки, належно розтирали з розрі-

джувачем або основою, як описано вище, та, необов'язково, зі зв'язувачем, як-то карбоксиметилцелюлоза, альгінат, желатин або полівінілпіролідон, розчином сповільнювача, як-то парафін, прискорювачем резорбції, як-то четвертинна сіль, та/або абсорбційним засобом, як-то бентоніт, каолін або дикальцій фосфат. Порошкову суміш можна гранулювати зволоженням зі зв'язувачем, як-то сироп, крохмалевий клей, акацієвий клей, або розчинами целюлозних або полімерних матеріалів та екструзією через сито. Як альтернатива гранулюванню, порошкову суміш можна пропускати через пристрій для таблетування, та наслідком є недосконалість виготовлення. Гранули можна змащувати для попередження прилипання до фасонного штампу таблетки шляхом додавання стеаринової кислоти, стеарату, тальку або мінерального масла. Змащену суміш потім пресують у таблетки. Сполуки заявленого винаходу також можна комбінувати з інертним носієм, що вільно тече, та пресувати в таблетки безпосередньо без проходження через етапи гранулювання або трамбування. Можна застосовувати прозоре або непрозоре захисне покриття, що складається з водоізолюючого прошарку шелаку, покриття цукром або полімерним матеріалом та глянсове покриття воском. У ці покриття можна додавати барвники, щоб розрізняти відмінні одиниці дозування.

Пероральні рідини, як-то розчин, сиропи та еліксири можна отримувати в одиничній формі дозування таким чином, що дана кількість містить передбачену кількість активної складової. Сиропи можна отримувати розчиненням сполуки в належно ароматизованому водному розчині, тим часом еліксири отримували через застосування нетоксичного спиртового наповнювача. Суспензії можна утворювати диспергуванням сполук у нетоксичному наповнювачі. Також можна додавати солюбілізатори та емульгатори, як-то етоксилізовані ізостеарилові спирти та етери поліоксиетиленсорбіту, консерванти, ароматизатори, як-то олія м'яти, природні заміники цукру або сахарин, або інші штучні заміники цукру та подібне.

Де доцільно, одиниця дозування композиції перорального застосування може бути мікроінкапсульованою. Композиції також можна отримувати для пролонгованого або затриманого вивільнення, наприклад, покриттям або уведенням розподіленого на частинки матеріалу в полімерах, воску або подібне.

Сполуки винаходу також можна застосовувати у формі ліпосомних систем, як-то малі моношарові везикули, великі моношарові везикули та багатошарові везикули. Ліпосоми можна утворювати з різноманітних фосфоліпідів, як-то холестерин, стеариламін або фосфатидилхоліні.

Сполуки винаходу також можна постачати застосуванням моноклональних антитіл як індивідуальних носіїв, до котрих приєднуються молекули сполук. Сполуки також можна приєднувати розчинними полімерами як цільовими носіями ліків. Такі полімери можуть охоплювати пептиди, полівінілпіролідон, сополімер пірану, полігідроксипропілметакриламід -фенол, полігідроксиетиласпартамід-фенол, або поліетиленоксид-полілізін,

заміщений залишками пальмітоїлу. Крім того, сполуки можна поєднувати із класом біодеградувальних полімерів, корисних для досягнення контрольованого вивільнення ліків, наприклад, з наступним: полімолочна кислота, полепсилон-капролактон, полігідроксимасляна кислота, поліортоестери, поліацеталі, полідигідропірани, поліціаноакрилати та шзиті або амфіпатичні блок-сополімери гідрогелей.

Фармацевтичні композиції, пристосовані для трансдермального застосування, можна надавати як роздільні бляшки, призначені перебувати в тісному контакті з епідермісом реципієнта протягом тривалого періоду часу. Наприклад, активну складову можна постачати із бляшки іонотопорезом як звичайно, описано в *Pharmaceutical Research*, 3(6):318 (1986).

Фармацевтичні композиції, пристосовані для місцевого застосування, можна створювати як мазі, креми, суспензії, лосьйони, порошки, розчини, клеї, гелі, спреї, аерозолі або олії.

Для лікування очей або інших зовнішніх тканин, наприклад, рота та шкіри, композиції краще застосовувати як місцеву мазь або крем. Коли композиція створена у вигляді мазі, активну складову можна застосовувати з парафіною або такою, що змішується з водою, основою мазі. Альтернативно, активну складову можна компонувати з основою крему олія-у-воді або основою вода-в-олії.

Фармацевтичні композиції, пристосовані для місцевих застосувань для очей охоплюють очні краплі, де активну складову розчинено або суспендовано в придатному носії, головним чином, у водному розчиннику.

Фармацевтичні композиції, пристосовані для місцевого застосування в роті охоплюють коржі, пастилки та розчини для полоскання порожнини рота.

Фармацевтичні композиції, пристосовані для ректального застосування, можна надавати як супозиторії або як клізми.

Фармацевтичні композиції, пристосовані для назального застосування, де носій є твердим, охоплюють грубий порошок, що має розмір частки, наприклад, у діапазоні 20 - 500 мікронів, який застосовують способом нюхання, тобто швидкої інгаляції порошку через назальні проходи з контейнеру, тримаючи упритул до носа. Придатні композиції, де носій є рідиною, для застосування як назальний спрей або як назальні краплі, охоплюють водні або олійні розчини активної складової.

Фармацевтичні композиції, пристосовані для застосування інгаляцією, охоплюють тонкі часточки пилу або аерозолів, котрі можна генерувати різними типами дозування, дозою герметизованих аерозолів, розпилювачами або інсуфляторами.

Фармацевтичні композиції, пристосовані для вагінального застосування можна надавати як пелюстки, тампони, креми, гелі, клеї, піни або композиції спрею.

Фармацевтичні композиції, пристосовані для парентерального застосування охоплюють водні та неводні стерильні розчини для ін'єкції, котрі

можуть містити антиоксиданти, буфери, бактеріостати та розчинені речовини, котрі дають композицію, ізотонічну із кров'ю реципієнта; та водні та неводні стерильні суспензії, котрі можуть охоплювати суспендувальні засоби та згущувальні засоби. Композиції можна надавати в одноклизових або багатоклизових контейнерах, наприклад, герметизованих ампулах та пробірках, та можна зберігати у висушеному сублімацією (ліофілізованому) стані, що потребує лише додавання стерильного рідинного носія, наприклад, води для ін'єкції, безпосередньо перед застосуванням. Розчини для ін'єкції та суспензії без підготовки можна отримувати зі стерильних порошків, гранул та таблеток.

Слід розуміти, що додатково до приведених вище конкретних складових композиції можуть містити інші засоби, обумовлених у рівні техніки, що стосуються типу даної композиції, наприклад, композиції, придатні для перорального застосування можуть містити ароматизатори.

В описаних вище способах лікування та застосування можна застосовувати виключно сполуку винаходу в комбінації з одною або більше іншими сполуками винаходу або в комбінації з іншими терапевтичними засобами, та/або в комбінації з іншим протинеопластичним лікуванням. Зокрема, у способах лікування станів, опосередкованих PLK, та способах лікування чутливих неоплазм, розглядається комбінація з іншими хіміотерапевтичними засобами, а також комбінація з хірургічним лікуванням та радіаційним лікуванням. Термін "хіміотерапевтичне", як тут застосовано, стосується будь-якого хімічного засобу, що має терапевтичну дію на суб'єкт, до котрого його застосовано. "Хіміотерапевтичні" засоби охоплюють (але без обмеження) протинеопластичні засоби, анальгетики та протиблювотні засоби. Як тут застосовано, "протинеопластичні засоби" охоплюють цитостатичні та цитотоксичні засоби, як-то (але без обмеження) цитотоксична хіміотерапія гормональна терапія, цільові інгібітори кінрази та терапевтичні моноклональні антитіла. Отже, комбіновані терапії згідно із заявленим винаходом містять застосування, принаймні, однієї сполуки винаходу та застосування, принаймні, одного іншого способу лікування раку. В одному втіленні комбіновані терапії згідно із заявленим винаходом містять застосування, принаймні, однієї сполуки винаходу та, принаймні, одного іншого хіміотерапевтичного засобу. В одному конкретному втіленні заявлений винахід містить застосування, принаймні, однієї сполуки винаходу та, принаймні, одного протинеопластичного засобу. Згідно з додатковим підходом заявленого винаходу запропоновано, як описано вище, способи лікування та застосування, котрі містять застосування сполуки винаходу разом з, принаймні, одним хіміотерапевтичним засобом. В одному конкретному втіленні хіміотерапевтичним засобом є протинеопластичний засіб. У ще одному втіленні згідно із заявленим винаходом запропоновано фармацевтичну композицію, як описано вище, що далі містить, принаймні, один інший хіміотерапевтичний засіб, найкраще, хіміотерапевтичним засобом є протинеопластичний засіб.

Типово, будь-який хіміотерапевтичний засіб, що має активність проти чутливої неоплазми, що лікують, можна застосовувати в комбінації зі сполуками винаходу за умови, що конкретний засіб є клінічно сумісний із лікуванням сполукою винаходу, що застосовують. Типові протинеопластичні засоби, придатні в заявленому винаході, охоплюють, (але без обмеження) протимікроканальцеві засоби, як-то дитерпеноїди та алкалоїди вінка; координаційні комплекси платини; алкілувальні засоби, як-то азотисті іприти, оксазафосфор-іни, алкілсульфонати, нітрозосечовини та триазени; антибіотичні засоби, як-то антрацикліни, актиноміцини та блеоміцини; інгібітори топоізомерази II, як-то епіподофілотоксини; антиметаболіти, як-то аналоги пурину та піримідину, та протифолатні сполуки; інгібітори топоізомерази I, як-то камптотецини; гормони та гормональні аналоги; інгібітори шляхів перетворення сигналу; інгібітори ангіогенезу нерецепторної тирозинкінази; імунотерапевтичні засоби; проапоптотичні засоби; та інгібітори сигналізації клітинного циклу.

Протимікроканальцеві або протимітотичні засоби є специфічними фазовими засобами, активними проти мікроканальцевих пухлин клітин протягом М-фази або фази мітозу клітинного циклу. Приклади протимікроканальцевих засобів охоплюють (але без обмеження) дитерпеноїди та алкалоїди вінка. Приклади дитерпеноїдів охоплюють (але без обмеження) паклітаксел та його аналог доцетаксел. Приклади алкалоїдів вінка охоплюють (але без обмеження) вінбластин, вінкрістин, та вінорелбін. Координаційні комплекси платини є нефазовими специфічними протинеопластичними засобами, котрі взаємодіють з ДНК. Комплекси платини проникають у пухлини клітини, піддаються гідратації та утворюють внутрішні та зовнішні зв'язки між ланцюгами ДНК, спричиняючи несприятливі біологічні дії на пухлину. Приклади координаційних комплексів платини охоплюють (але без обмеження) оксалиплатин, цисплатин та карбоплатин.

Алкілувальні засоби є нефазовими специфічними протинеопластичними засобами та сильним електрофілами. Типово, алкілувальні засоби утворюють ковалентні зв'язки алкілуванням ДНК через нуклеофільні часточки молекули ДНК, як-то фосфат-групи, аміногрупи та гідроксильні групи. Таке алкілування порушує функцію нуклеїнової кислоти, що веде до смерті клітини. Приклади алкілувальних засобів охоплюють (але без обмеження) азотисті іприти, як-то циклофосфамід, мелфалан та хлорамбуцил; алкілсульфонати, як-то бусульфан; нітрозосечовини, як-то кармустин; та триазени, як-то дакарбазин.

Антибіотичні хіміотерапевтичні засоби є нефазовим специфічними засобами, котрі зв'язують ДНК або проникають у ДНК. Типово, така дія призводить до стабільності комплексів ДНК або розриву ланцюгу, котрий порушує звичайну функцію нуклеїнової кислоти, що веде до смерті клітини. Приклади антибіотичних протинеопластичних засобів охоплюють (але без обмеження) актиноміцини, як-то дактиноміцин, антрацикліни, як-то даунорубіцин та доксорубіцин; та блеоміцини.

Інгібітори топоізомерази II охоплюють (але без обмеження) епіподофілотоксини.

Епіподофілотоксини є фазовими специфічними протинеопластичними засобами, виділеними з рослини мандрагора. Епіподофілотоксини типово діють на клітини у фазах S та G₂ клітинного циклу утворенням потрійного комплексу з топоізомеразою II та ДНК, спричиняючи розриви ланцюгів ДНК. Розриви ланцюгів накопичують подальшу смерть клітини. Приклади епіподофілотоксинів охоплюють (але без обмеження) етопозид та теніпозид.

Антиметаболіти неопластичні засоби є фазовими специфічними протинеопластичними засобами, що діють на фазу S (синтез ДНК) клітинного циклу інгібуванням синтезу ДНК або інгібуванням синтезу основи пурину або піримідину, що в такий спосіб обмежує синтез ДНК. Отже, фаза S не діє, і наступає смерть клітини. Приклади антиметаболітичних протинеопластичних засобів охоплюють (але без обмеження) флуорурацил, метотрексат, цитарабін, меркаптопурин та тіогуанін.

Камптотецини, що охоплюють камптотецин та похідні камптотецину, є доступними або є в процесі розвитку як інгібітори топоізомерази I. Уважається, що існує цитотоксична активність камптотецинів стосовно їх інгібіторної активності топоізомерази I. Приклади камптотецинів охоплюють (але без обмеження) іринотекан, топотекан та різні оптичні форми 7-(4-метилпіперазинометил)-10,11-етилендіокси-20-камптотецину.

Гормони та аналоги гормонів є корисними сполуками для лікування раків, при яких існує взаємозалежність між гормоном(и) та ростом та/або відсутністю росту раку. Уважають, що приклади гормонів та аналогів гормонів, що є корисними в лікуванні неоплазм, охоплюють (але без обмеження) адренокортикостероїди, як-то преднізон та преднізолон, котрі є корисними в лікуванні злоякісної лімфоми та гострої лейкемії в дітей; аміноглутетимід та інші інгібітори ароматази, як-то анастрозол, летразол, воразол, та ексеместан, що містять рецептори естрогену, корисні в лікуванні адренокортикальної карциноми та гормон-залежного раку грудних залоз; прогестрини як-то мегестрол ацетат, корисний в лікуванні гормон-залежного раку грудних залоз та раку ендометрію; естрогени, андрогени та антиандрогени, як-то флутамід, нілутамід, бікалутамід, ципротерон ацетат, та 5 α -редуктази, як-то фінастерид та дутастерид, корисні в лікуванні карциноми простати та доброякісної гіпертрофії простати; антиестрогени, як-то тамоксифен, тореміфен, ралоксифен, дролоксифен та йодоксифен, корисні в лікуванні гормон-залежного раку грудних залоз; та гонадоліберин (GnRH) і його аналоги, як-то гoserelin ацетат та лейпролід, котрі стимулюють вивільнення лейтинізувального гормону (LH) та/або фолікуло-стимульованого гормону (FSH) з короткотерміновим або періодичним застосуванням, але що призводить до супресії LH, та FSH при довготерміновому застосуванні, показаному для лікування карциноми простати та гормон-залежної карциноми грудних залоз.

Інгібітори шляхів перетворення сигналу є такими інгібіторами, котрі блокують або інгібують хімічний процес, котрий обумовлює внутрішньоклі-

тинну зміну. Як тут застосовано, ця зміна є клітинною проліферацією, виживанням, ангиогенезом або диференціацією. Інгібітори сигналу трансдукції, корисні згідно із заявленим винаходом, охоплюють інгібітори рецепторних тирозинкіназ, нерецепторних тирозинкіназ, блокаторів домену SH2/SH3, серин/треонінкіназ, фосфотидилінозит-3-кіназ, сигналізації міоїнозиту та Ras-онкогенів.

Деякі білкові тирозинкінази каталізують фосфорилування специфічних тирозин-залишків у різних білках, охоплених у регулюванні росту клітин. Такі білкові тирозинкінази можна широко класифікувати як рецепторні або нерецепторні кінази.

Рецепторні тирозинкінази є трансмембранними білками, що мають позаклітинний домен зв'язування ліганду, трансмембранний домен та домен тирозинкінази. Рецепторні тирозинкінази залучено в регулювання клітинного росту, та інколи їх називають рецепторами фактору росту. Можна показати, що невідповідна або неконтрольована активація багатьох із цих кіназ, тобто активності рецептору фактору росту абераційної кінази, наприклад, зверекспресією або мутацією, призводить до неконтрольованого клітинного росту. Відповідно, абераційну активність таких кіназ можна пов'язувати зі злосудним тканинним ростом. Отже, інгібітори таких кіназ можуть постачати способи лікування раку. Рецептори фактору росту охоплюють, наприклад, епідермічний рецептор фактору росту (EGFR, ErbB2 та ErbB4), рецептор фактору росту, похідного від тромбоциту (PDGFR), рецептор судинного ендотеліального фактору росту (VEGFR), тирозинкіназа з доменами, гомологічними імуноглобулінподібному та епідермічному фактору росту (TIE-2), рецептор фактору-1 росту інсуліну (IGF-1), фактор стимулювання колонії макрофагів (cfms), BTK-, ckit-, cmet-рецептори фактору росту фібробластів (FGF), Trk-рецептори (TrkA, TrkB, та TrkC), рецептори ефрину (Eph), та RET-протоонкоген. Декілька інгібіторів рецепторів фактору росту є в розробці та охоплюють антагоністи ліганду, антитіла, інгібітори тирозинкінази, антисенсові олігонуклеотиди та аптамери. Рецептори фактору росту та засоби, що інгібують функцію рецептору фактору росту описано, наприклад, в Kath, John C, Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(6):803-818; Shawver et al DDT Vol 2, No.2 February 1997; and Lofts, F. J. et al, "Growth Factor Receptors as Targets", New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy, Ed. Workman, Paul and Kerr, David, CRC Press 1994, London.

Тирозинкінази, котрі не є кіназами рецептору фактору росту, названо нерецепторними тирозинкіназами. Придатні в заявленому винаході нерецепторні тирозинкінази, котрі є мішенями або потенційними мішенями протинеопластичних ліків, охоплюють cSrc, Lck, Fyn, Yes, Jak, cAbl, FAK (фокальні адгезійні кінзи), тирозинкіназу Brutons, та Bcr-Abl. Такі нерецепторні кінази та засоби, котрі інгібують функцію нерецепторної тирозинкінази, описано в Sinh, S. and Corey, S.J., (1999) Journal of Hematology Stem Cell Research 8 (5):465-80; та Bolen, J.B., Brugge, J.S., (1997) Annual Review of Immunology. 15: 371-404.

Блокатори домену SH2/SH3 є засобами, що розривають у різноманітних ферментах зв'язок домену SH2 або SH3 або адаптор білків, охоплюючи підгрупу PI3-K p85, кінази Src-сімейства, адаптор молекул (She, Crk, Nek, Grb2) та Ras-GAP. Домени SH2/SH3 як мішені для протиракових ліків розглянуто в Smithgall, T.E. (1995), Journal of Pharmacological та Toxicological Methods. 34(3)125-32.

Інгібітори серин/треонін-кінази охоплюють каскадні блокатори MAP-кінази, котрі охоплюють блокатори Raf-кінази (Rafk), міоген- або зовнішньоклітинно-регульованої кінази (MEKs) та зовнішньоклітинно-регульованої кінази (ERK); та блокатори члену C-сімейства білкової кінази, охоплюючи блокатори підтипів PKC (альфа, бета, гама, епсилон, мю, лямбда, йота, зета), IKB-сімейства кінази (IKKa, IKKb), PKB-сімейства кіназ, члени сімейства Akt-кінази та рецепторної кінази TGF-бета. Такі серин/треонін-кінази та їх інгібітори описано в Yamamoto, T., Taya, S., Kaibuchi, K. (1999), Journal of Biochemistry. 126 (5) 799-803; Brodt, P., Samani, A., Navab, R. (2000), Biochemical Pharmacology, 60,1101-1107; Massague, J., Weis-Garcia, F. (1996) Cancer Surveys. 27:41-64; Philip, P.A., та Harris, A.L. (1995), Cancer Treatment and Research. 78: 3-27, Lackey, K. et al Bioorganic та Medicinal Chemistry Letters, (10), 2000, 223-226; та Martinez-Iacaci, L, et al, Int. J. Cancer (2000), 88(1), 44-52.

Інгібітори членів сімейства фосфотидилінозит-3-кінази, охоплюючи блокатори PI3-кінази, ATM, DIMA-PK, та Ku також є придатними в комбінації із заявленим винаходом. Такі кінази розглянуто в Abraham, R.T. (1996), Current Opinion in Immunology. 8 (3) 412-8; Canman, C.E., Lim, D.S. (1998), Oncogene 17 (25) 3301-3308; Jackson, S.P. (1997), International Journal of Biochemistry and Cell Biology. 29 (7):935-8; and Zhong, H. et al, Cancer Res. (2000)60(6), 1541-1545.

Також придатними в комбінації із заявленим винаходом є інгібітори сигналізації міоїнозиту, як-то блокатори фосфоліпази C та аналоги міоїнозиту. Такі інгібітори сигналу описано в Powis, G., and Kozikowski A., (1994) New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy ed., Paul Workman and David Kerr, CRC Press 1994, London.

Ще одна група інгібіторів шляхів перетворення сигналу, придатна в комбінації з заявленим винаходом, є інгібіторами Ras-онкогену. Такі інгібітори охоплюють інгібітори фарнезилтрансферази, гераніл-геранілтрансферази та СААХ-протеази, а також античутливі олігонуклеотиди, рибозими та імунотерапію. Такі інгібітори показано для блокування Ras-активації в клітинах, що містять дикого типу Ras-мутант, таким чином, діючи як антипроліферативні засоби. Інгібування Ras-онкогену розглянуто в Scharovsky, O.G., Rozados, V.R., Gervasoni, S.I. Matar, P. (2000), Journal of Biomedical Science. 7(4) ' 292-8; Ashby, M.N. (1998), Current Opinion in Lipidology. 9(2)99-102; та Biochim. Biophys. Acta, (1989) 1423(3):19-30.

Як приведено вище, антитіла до зв'язування ліганду рецепторної кінази також можуть служити інгібіторами сигналу трансдукції. Ця група інгібіторів шляхів перетворення сигналу охоплює засто-

сування послаблених антитіл до позаклітинного домену зв'язування ліганду рецепторних тирозинкіназ. Наприклад, специфічне антитіло імклон C225 EGFR (дивись Green, M.C. et al, Monoclonal Antibody Therapy for Solid Tumors, Cancer Treat. Rev., (2000), 26(4), 269-286); антитіло Herceptin® ErbB2 (дивись Tyrosine Kinase Signaling in Breast Cancer: ErbB Family Receptor Tyrosine Kinases, Breast Cancer Res., 2000, 2(3), 176-183); та специфічне антитіло 2CB VEGFR2 (дивись Brekken, R.A. et al, Selective Inhibition of VEGFR2 Activity by a Monoclonal Anti-VEGF Antibody Blocks Tumor Growth in Mice, Cancer Res. (2000) 60, 5117-5124)..

Інгібітори ангіогенезу рецептору кінази також можуть знаходити застосування в заявленому винаході. Інгібітори ангіогенезу, споріднені VEGFR та TIE2, розглянуто вище стосовно інгібіторів сигналу трансдукції (обидва рецептори є рецепторами тирозинкіназ). Інші інгібітори можна застосовувати в комбінації зі сполуками заявленого винаходу. Наприклад, антитіла анти-VEGF, котрі не розпізнають VEGFR (рецептор тирозинкінази), але зв'язуються з лігандом; інгібітори малої молекули інтегрину (альфа, бета₃), що здатні інгібувати ангіогенез; ендостатин та ангіостатин (не-RTK) також можуть бути корисними в комбінації з інгібіторами PLK.

Засоби, застосовані в імунотерапевтичному режимі, також можуть бути корисними в комбінації зі сполуками винаходу.

Засоби, застосовані в проапоптотичних режимах, (наприклад, античутливі олігонуклеотиди bcl-2) також можна застосовувати зі сполученнями заявленого винаходу. Члени сімейства білків Bcl-2 блокують апоптоз. Тому підвищення регулювання bcl-2 пов'язано зі стійкістю до хімічного впливу. Дослідження показали, що епідермічний фактор росту (EGF) стимулює протиапоптотичні члени сімейства bcl-2 (тобто, mcl-1). Отже, стратегії, спрямовані на зниження регулювання експресії bcl-2 в пухлинах мають демонструвати клінічну перевагу, і тепер є в II/III фазі випробувань, а саме - античутливий олігонуклеотид Genta's G3139 bcl-2.

Такі проапоптотичні стратегії, що застосовують стратегію античутливого олігонуклеотиду для bcl-2, розглянуто в Water JS et al., J. Clin. Oncol. 18:1812-1823 (2000); and Kitada S et al., Antisense Res. Dev. 4:71-79 (1994).

Інгібітори сигналізації клітинного циклу інгібують молекули, охоплені в контролі клітинного циклу. Циклін-залежні кінази (CDKs) та цикліни їх взаємодії контролюють рух через еукаріотичний клітинний цикл. Координована активація та інактивація різних комплексів циклін/CDK є потрібною для нормального руху через клітинний цикл. Декілька інгібіторів сигналізації клітинного циклу є в розробці. Наприклад, приклади циклін-залежних кіназ, охоплюючи CDK2, CDK4, та CDK6 та інгібіторів для них описано, наприклад, в Rosania, et al., Exp. Opin. Ther. Patents 10(2):215-230(2000).

В одному втіленні способи заявленого винаходу полягають у застосуванні до тварини сполуки винаходу в комбінації з інгібітором шляху перетворення сигналу, конкретно, гефітінібом (IRESSA®).

Способи та застосування, що застосовують ці комбінації, можуть охоплювати застосування спо-

луки винаходу та іншого хіміотерапевтичного/протинеопластичного засобу або послідовно в будь-якому порядку або одночасно в окремій або комбінованій фармацевтичній композиції. Коли їх комбіновано в цій самій композиції, слід розуміти, що дві сполуки повинні бути стабільними та сумісними з кожною іншою сполукою та іншими компонентами композиції, та їх можна постачати для застосування. Коли їх розроблено окремо, то їх можна постачати в будь-якій придатній композиції, таким способом, який є відомим для так сполук у рівні техніки.

Коли сполуку винаходу застосовано в комбінації з хіміотерапевтичним засобом, доза кожної сполуки може бути відмінною від дози сполуки, застосованої як такої. Відповідні дози слід легко оцінювати відповідним спеціалістам у рівні техніки. Відповідна доза сполуки(ук) винаходу та іншого терапевтично активного засобу(ів) та відповідний відлік часу застосування слід вибирати належним чином для досягнення бажаного комбінованого терапевтичного ефекту, та є в межах компетентності та вибору лікаря-клініциста.

Сполуки винаходу можна легко отримувати способами, описаними в наступних прикладах.

Згідно із заявленим винаходом також запропоновано мічені радіоактивним ізотопом сполуки винаходу та біотинізовані сполуки винаходу та їх варіанти, закріплені на твердому носіїві. Мічені радіоактивним ізотопом сполуки винаходу та біотинізовані сполуки винаходу можна отримувати, застосовуючи звичайну техніку. Наприклад, мічені радіоактивним ізотопом сполуки винаходу можна отримувати реакцією сполуки винаходу з газом тритієм у присутності відповідного каталізатору для продукування мічених радіоактивним ізотопом сполук винаходу. В одному втіленні сполуки є насиченими тритієм.

Мічені радіоактивним ізотопом сполуки винаходу та біотинізовані сполуки винаходу є корисними в аналізах для ідентифікації сполук, котрі інгібують PLK, для ідентифікації сполук для лікування стану, опосередкованого PLK, для лікування чутливих неоплазм, для лікування станів, які охарактеризовано невідповідною проліферацією, для інгібування проліферації клітини та для інгібування мітозу в клітині. Відповідно, згідно із заявленим винаходом запропоновано спосіб аналізу для ідентифікації таких сполук, цей спосіб полягає в етапі конкретного зв'язування міченої радіоактивним ізотопом сполуки винаходу або біотинізованої сполуки винаходу до білку мішені або клітинних гомогенатів. Конкретніше, придатним способом аналізу слід охоплювати аналізи конкурентного зв'язування. Мічені радіоактивним ізотопом сполуки винаходу та біотинізовані сполуки винаходу та їх закріплені на твердому носіїві варіанти, можна застосовувати в аналізах відповідно до способів, обумовлених у рівні техніки.

Наступні приклади призначено лише для ілюстрації та не призначено для обмеження винаходу будь-яким шляхом, винахід буде розкрито далі у формулі винаходу.

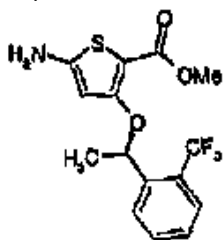
Наступні скорочення, які застосовано в прикладах, мають наступні значення.

г грам(и)
 мг міліграм(и)
 мольмоль(и)
 ммоль мілімоль(и)
 N нормальний
 л літр(и)
 мл мілілітр(и)
 мкл мікролітр(и)
 год. година(и)
 хвил. хвилина(и)
 °C градуси Цельсія
 HCl хлоридна кислота
 ДХМ дихлорметан
 MeOH метанол
 EtOAc етилацетат
 MgSO₄ магній сульфат
 NaHCO₃ натрій гідрокарбонат
 K₂CO₃ калій карбонат
 Na₂SO₄ натрій сульфат
 N₂ азот
 H₂ водень
 XANTPHOS (4,5-біс(дифенілфосфін)-9,9-

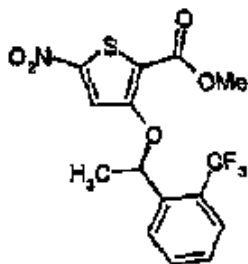
диметилксантин) є доступним у торгівлі каталізатором від Aldrich.

Реагенти є доступним у торгівлі або їх отримували відповідно процедурам у літературі. У наступних структурах, "Me" стосується групи -CH₃.

Приклад інтермедіату 1; Метил 5-аміно-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметилфеніл)етил]окси)-2-тіофенкабоксилат



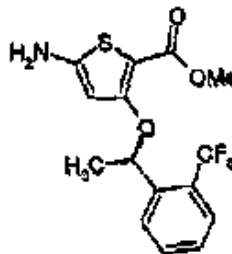
Етап А - Метил 5-нітро-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметилфеніл)етил]окси)-2-тіофенкабоксилат



Кашку закріпленого на полімері трифенілфосфіну (62,36г, 2,21ммоль/г, 137,8ммоль) у ДХМ (1,0л) перемішували при кімнатній температурі протягом 10 хвилин. Суміш охолоджували до 0°C. Додавали метил 3-гідрокси-5-нітро-2-тіофенкабоксилат (20,00г, 98,44ммоль), котрий можна отримувати способом, аналогічним описаному в літературі (Barker, J.M.; Huddleston, P.R.; Wood, M.L.; Burkitt, S.A. Journal of Chemical Research (Miniprint) 200A, 1001-1022), а потім - (15)-1-[2-(трифлуорметилфеніл)етанол (26,20г, 137,8ммоль) та ди-трет-бутилазодикарбоксилат (31,73г, 137,8ммоль). Реакційну суміш перемішували

при кімнатній температурі протягом 21,25год. та потім фільтрували через фритову лійку та концентрували. Залишок обробляли 4 N HCl в 1,4-діоксані (300мл) та перемішували при кімнатній температурі протягом 3год. Суміш потім гасили додаванням 3 N натрій гідроксиду (300мл) та насиченим водним NaHCO₃ (200мл). Суміш екстрагували ДХМ (3 x 250мл). Комбіновані органічні часточки сушили над MgSO₄, фільтрували та концентрували на силікагелі. Очищення хроматографією на колонці (0 - 25% EtOAc:гексани) почало 36,08г (98%) заголовної сполуки як жовтої олії. ¹H ЯМР (300МГц, CDCl₃): δ 7,82 (d, 1H, J=7,8Гц), 7,68 (d, 1H, J=7,8Гц), 7,59 (t, 1H, J=7,4Гц), 7,46 (s, 1H), 7,42 (t, 1H, J=7,6Гц), 5,77 (q, 1H, J=6,1Гц), 3,94 (s, 3H), 1,74 (d, 3H, J=6,1Гц).

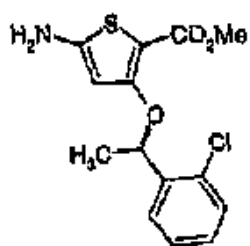
Етап В - Метил 5-аміно-3-(((1R)-1-(2-(трифлуорметилфеніл)етил)окси)-2-тіофенкабоксилат



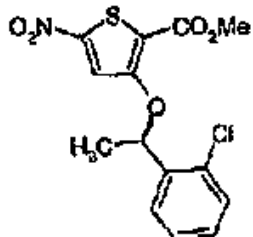
До колби, оснащеної датчиком температури, підвісною механічною мішалкою, дефлегматором та лійкою для додавання додавали порошок заліза (26,84г, 480,6ммоль) та оцтову кислоту (130мл). Кашку залізо/оцтова кислота механічно перемішували та нагрівали до внутрішньої температури 50°C. У лійку для додавання додавали розчин метил

5-нітро-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметилфеніл)етил]окси)-2-тіофенкабоксилату (36,08г, 96,13ммоль) в оцтовій кислоті (160мл). Потім розчин з лійки краплями додавали до кашки залізо/оцтова кислота з такою швидкістю, щоб внутрішню температуру підтримувати <60°C (2,5год. загальний час додавання). Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, розбавляли ДХМ (500мл), і потім гасили додаванням 6 N натрій гідроксиду (750мл) та насиченого водного NaHCO₃ (200мл). Цілу суміш потім фільтрували через прокладку целіту для видалення нерозчинного матеріалу, промиваючи целіт додатковим ДХМ (250мл). Водну та органічну фракції відокремлювали. Водну фракцію екстрагували EtOAc (2 x 400мл). Органічні фракції комбінували, сушили над MgSO₄, фільтрували та концентрували, що давало 30,66г (92%) заголовної сполуки як оранжевої твердої речовини. ¹H ЯМР (300МГц, CDCl₃): 87,89 (d, 1H, J=7,7Гц), 7,62 (d, 1H, J=7,7Гц), 7,56 (t, 1H, J=7,7Гц), 7,36 (t, 1H, J=7,7Гц), 5,72 (s, 1H), 5,65 (q, 1H, J=6,3Гц), 4,26 (brs, 2H), 3,80 (s, 3H), 1,66 (d, 3H, J=6,3Гц); MS (XIAI): 368,00 [M+Na]⁺.

Приклад інтермедіату 2; Метил 5-аміно-3-(((1R)-1-(2-хлорфеніл)етил)окси)-2-тіофенкабоксилат

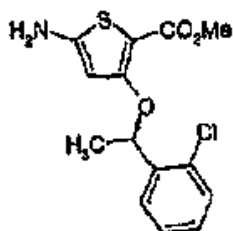


Етап А - Метил 3-(((1R)-1-(2-хлорфеніл)етил)окси)-5-нітро-2-тіофенкарбоксилат



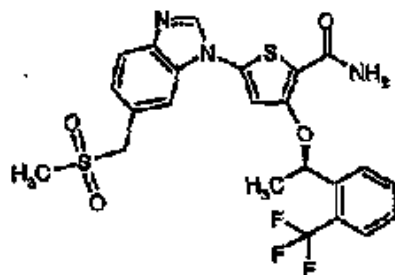
Метил 3-(((1R)-1-(2-хлорфеніл)етил)окси)-5-нітро-2-тіофенкарбоксилат отримували з метил 3-гідрокси-5-нітро-2-тіофенкарбоксилату та (1S)-1-(2-хлорфеніл)етанолу процедурою такою, як у прикладі інтермедиату 1, етап А. ^1H ЯМР (400МГц, DMCO-d_6): δ 7,96 (s, 1H), 7,65 (dd, 1H, $J=1,7$, 7,8Гц), 7,47 (dd, 1H, $J=1,5$, 7,7Гц), 7,40 (dt, 1H, $J=1,3$, 7,5Гц), 7,34 (dt, 1H, $J=1,9$, 7,5Гц), 5,98 (q, 1H, $J=6,0$ Гц), 3,85 (s, 3H), 1,59 (d, 3H, $J=6,2$ Гц).

Етап В - Метил 5-аміно-3-(((1R)-1-(2-хлорфеніл)етил)окси)-2-тіофенкарбоксилат



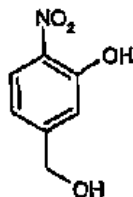
Метил 5-аміно-3-(((1R)-1-(2-хлорфеніл)етил)окси)-2-тіофенкарбоксилат отримували з метил 3-(((1R)-1-(2-хлорфеніл)етил)окси)-5-нітро-2-тіофенкарбоксилату процедурою такою, як у прикладі інтермедиату 1, етапі В. ^1H ЯМР (400МГц, DMCO-d_6): 87,54 (dd, 1H, $J=1,8$, 7,9Гц), 7,45 (dd, 1H, $J=1,4$, 7,7Гц), 7,37 (dt, 1H, $J=1,4$, 7,7Гц), 7,31 (dt, 1H, $J=1,8$, 7,6Гц), 6,76 (br s, 2H), 5,57 (q, 1H, $J=6,2$ Гц), 5,49 (s, 1H), 3,63 (s, 3H), 1,51 (d, 3H, $J=6,4$ Гц); $\text{MS (ESI): } 334,03 [\text{M}+\text{Na}]^+$.

Приклад 1: 5-{6-[(Метилсульфоніл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксамід



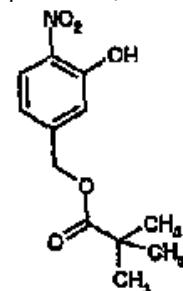
Шлях 1:

Етап А - 5-(Гідроксиметил)-2-нітрофенол



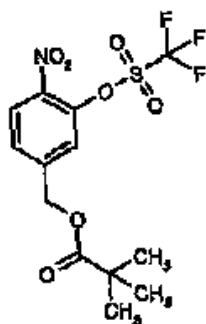
До суміші 3-гідрокси-4-нітробензойної кислоти (5,0г, 27,3ммоль) в 1,2-дихлоретані (100мл) додавали триметилборат (4,9мл, 43,7ммоль), а потім - бор трифлуорид діетилетерат (5,5мл, 43,7ммоль). Потім повільно краплями додавали комплекс боран-піридин (4,1мл, 41,0ммоль). Реакцію перемішували 4год. при кімнатній температурі, потім охолоджували до 0°C та гасили MeOH (10мл). Суміш концентрували під вакуумом та залишок переміщали в толуол (200мл), потім екстрагували водним 1 N натрій гідроксидом (3 x 100мл). Комбіновані водні шари регулювали до pH 1,0 додаванням 12 N HCl , потім екстрагували EtOAc (3 x 250мл). Комбіновані органічні шари промивали водою, розсоллом, сушили над MgSO_4 та концентрували під вакуумом, що давало 4,55г (98%) заголовної сполуки як блідо-жовтої твердої речовини. ^1H ЯМР (400МГц, DMCO-d_6): 810,87 (s, 1H), 7,85 (d, 1H, $J=8,6$ Гц), 7,08 (s, 1H), 6,88 (dd, 1H, $J=1,19$, 8,51Гц), 5,43 (s, 1H), 3,33 (s, 2H).

Етап В - 3-Гідрокси-4-нітробензил-триметлацетат



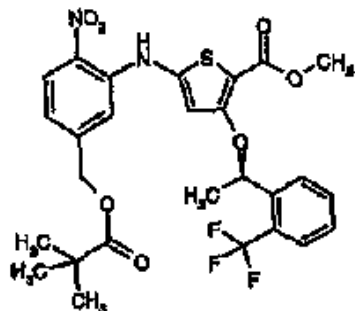
Суміш 5-(гідроксиметил)-2-нітрофенолу (11,35г, 67,15ммоль) та 3-(2,2-диметилпропанойл)-1,3-діазолідин-2-тіону (15,0г, 73,89ммоль), котрий можна отримувати способом, аналогічним описаному в літературі (Yamada, S. Tetrahedron Letters 1992, 33, 2171-2174), перемішували в толуолі (670мл) при 100°C протягом 40год., потім охолоджували до кімнатної температури. Реакцію концентрували під вакуумом до об'єму приблизно 200мл та отриману кашку фільтрували через паперовий фільтр, промиваючи тверду речовину холодним толуолом. Фільтрат потім концентрували під вакуумом та очищали хроматографією на силікагелі, елюючи з градієнтом 0-до-20% EtOAc /гексанів, що давало 11,09г (65%) заголовної сполуки як прозорої жовтої олії. ^1H ЯМР (400МГц, DMCO-d_6): δ 11,05 (s, 1H), 7,87 (d, 1H, $J=8,42$ Гц), 7,06 (s, 1H), 6,90 (dd, 1H, $J=1,46$, 8,42Гц), 5,09 (s, 2H), 1,18 (s, 9H).

Етап С - 4-Нітро-3-(((трифлуорметил)сульфоніл)окси)бензил триметлацетат



До перемішаного, охолодженого (0°C) розчину 3-гідрокси-4-нітробензил триметлацетату (11,11г, 43,9ммоль) та N-фенілтрифлуорметансульфоніміду (16,51г, 46,2ммоль) у ДХМ (220мл) повільно додавали N,N-діізопропілетиламін (15,5мл, 88,9ммоль). Реакцію перемішували протягом 45хвил. при 0°C, потім 45хвил. при кімнатній температурі. Потім реакцію концентрували під вакуумом та очищали хроматографією на силікагелі, елюючи з градієнтом 5-до-20% EtOAc/гексанів, що давало 16,87г (99%) заголовної сполуки як не білої твердої речовини. ¹H ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): δ 8,36 (d, 1H, J=8,42Гц), 7,75-7,69 (m, 2H), 5,27 (s, 2H), 1,19 (s, 9H).

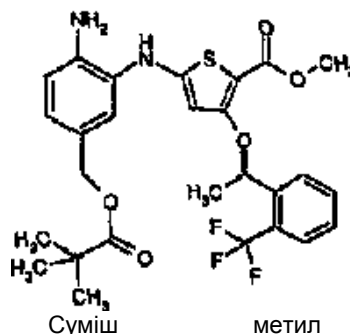
Етап D - Метил 5-[(5-[(2,2-диметилпропаноїл)окси]метил)-2-нітрофеніл]аміно-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)тіофен-2-карбоксилат



Суміш 4-нітро-3-[[[(трифлуорметил)сульфоніл]окси]бензил триметлацетату (1,0г, 2,60ммоль), метил 5-аміно-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)тіофен-2-карбоксилату (1,34г, 3,88ммоль), тетракіс(трифенілфосфін)паладію (0) (150 мг, 0,13ммоль), трифенілфосфіну (68 мг, 0,26ммоль) та K₂CO₃ (900 мг, 6,5ммоль) перемішували толуолі (5,2мл) при 100°C протягом 2год., потім охолоджували до кімнатної температури та фільтрували через Целіт, промиваючи EtOAc та ДХМ. Фільтрат концентрували під вакуумом та очищали хроматографією на силікагелі, елюючи з градієнтом 5-до-25% EtOAc/гексану, що давало 1,26г (84%) заголовної сполуки як червоної олії. ¹H ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): δ 9,75 (s, 1H), 8,09 (d, 1H, J=8,6Гц), 7,89 (d, 1H, J=7,87Гц), 7,69-7,78 (m, 2H), 7,52 (t, 1H, J=7,59Гц), 7,34 (s, 1H), 7,01 (dd, 1H, J - 1,46, 8,60Гц), 6,62 (s, 1H), 5,70-5,75 (m, 1H), 5,07 (s, 2H), 3,74 (s, 3H), 1,58 (d, 3H, J=6,22Гц), 1,13 (s, 9H).

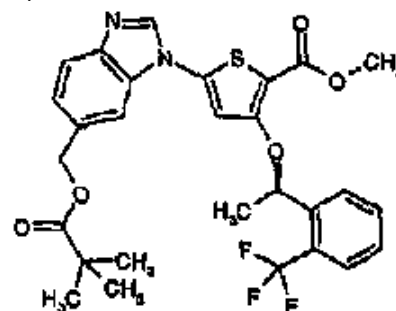
Етап E - Метил 5-[(2-аміно-5-[(2,2-диметилпропаноїл)окси]метил)феніл]аміно]-3-

(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)тіофен-2-карбоксилат



Суміш метил 5-[(5-[(2,2-диметилпропаноїл)окси]метил)-2-нітрофеніл]аміно]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)тіофен-2-карбоксилату (2,42г, 4,17ммоль) та платини (сульфидованої, 5 мас.% на вуглецю) (811 мг, 0,21ммоль) в EtOAc (30мл) додавали до реакційної склянки для високого тиску. Реакцію очищали вакуумом, та застосовували газ N₂, потім - газ H₂ при 50 фунт/кв.дюйм протягом 1год. Реакційну суміш фільтрували через Целіт, промиваючи EtOAc. Фільтрат концентрували під вакуумом, що давало 2,27г (99%) заголовної сполуки як жовто-коричневої твердої речовини. ¹H ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): δ 8,62 (s, 1H), 7,84 (d, 1H, J=7,87Гц), 7,72 (dd, 2H, J=7,60, 13,09Гц), 7,50 (t, 1H, J=7,60Гц), 7,01 <d, 1H, J=1,46Гц), 6,88 (dd, 1H, J=1,74, 8,15), 6,68 (d, 1H, J=8,24Гц), 5,83 (s, 1H), 5,59-5,65 (m, 1H), 4,97 (s, 2H), 4,85 (s, 2H), 3,64 (s, 3H), 1,55 (d, 3H, J=6,23Гц), 1,11 (s, 9H); MC (ESI): 551 [M+H]⁺.

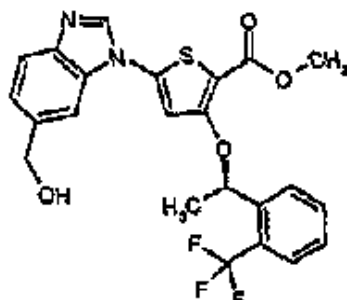
Етап F- Метил 5-(6-[(2,2-диметилпропаноїл)окси]метил)-1H-бензімідазол-1-іл)-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)тіофен-2-карбоксилат



До суміші метил 5-[(2-аміно-5-[(2,2-диметилпропаноїл)окси]метил)феніл]аміно]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)тіофен-2-карбоксилату (2,27г, 4,13ммоль) в триетилортоформіаті (10мл, 60,2ммоль) та ДХМ (3мл) додавали піридиніум п-толуолсульфонат (100 мг, 0,4ммоль). Реакцію перемішували при 40°C протягом 1год., потім охолоджували до кімнатної температури. Цілу реакційну суміш завантажували на силікагель та очищали хроматографією на силікагелі, елюючи з градієнтом 0-до-50% EtOAc/гексанів, що давало 2,0г (86%) заголовної сполуки як світлої жовто-коричневої твердої речо-

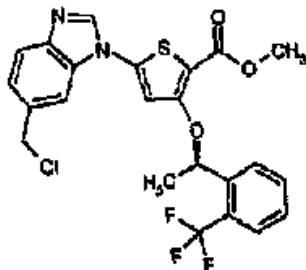
вини. ^1H ЯМР (400МГц, DMCO-d_6): δ 8,65 (s, 1H), 7,99 (d, 1H, $J=7,87\text{Гц}$), 7,75-7,80 (m, 2H), 7,72 (d, 1H, $J=7,87\text{Гц}$), 7,63 (s, 1H), 7,53 (t, 1H, $J=7,60\text{Гц}$), 7,40 (s, 1H), 7,35 (d, 1H, $J=8,42\text{Гц}$), 5,96 (q, 1H, $J=6,10\text{Гц}$), 5,21 (s, 2H), 3,83 (s, 3H), 1,65 (d, 3H, $J=6,23\text{Гц}$), 1,16 (s, 9H); МС (ESI): 561 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Етап G - Метил 5-[6-(гідроксиметил)-1H-бензімідазол-1-іл]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)тіофен-2-карбоксилат



До перемішаного розчину метил 5-[6-(((2,2-диметилпропанол)окси)метил)-1H-бензімідазол-1-іл]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)тіофен-2-карбоксилату (5,21г, з другої партії, застосовуючи процедуру, аналогічну наступному: приклад 1, шлях 1, етап F, 9,30ммоль) в MeOH (24мл) додавали 0,5М натрій гідроксид в MeOH (24,0мл, 12ммоль). Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 72год., потім гасили оцтовою кислотою (2мл). Суміш розбавляли ДХМ (350мл) та напівнасиченим водним розчином розсолу (150мл). Водний шар екстрагували ДХМ (250мл). Комбіновану органіку сушили над MgSO_4 та концентрували під вакуумом, що давало 4,40г (99%) заголовної сполуки як біло-жовтої твердої речовини. ^1H ЯМР (400МГц, DMCO-d_6): δ 8,58 (s, 1H), 7,99 (d, 1H, $J=7,87\text{Гц}$), 7,69-7,81 (m, 3H), 7,51-7,58 (m, 2H), 7,38 (s, 1H), 7,30 (d, 1H, $J=8,42$), 5,96 (q, 1H, $J=6,10\text{Гц}$), 5,30 (t, 1H, $J=5,77\text{Гц}$), 4,62 (d, 2H, $J=5,86\text{Гц}$), 3,83 (s, 3H), 1,65 (d, 3H, $J=6,23\text{Гц}$); МС (ESI): 477 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

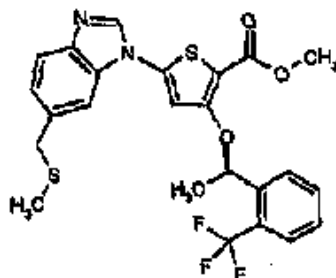
Етап H - Метил 5-[6-(хлорметил)-1H-бензімідазол-1-іл]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)тіофен-2-карбоксилат



До перемішаного розчину метил 5-[6-(гідроксиметил)-1H-бензімідазол-1-іл]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)тіофен-2-карбоксилату (1,47г, 3,08ммоль) та трифенілфосфіну (1,05г, 4,01ммоль) у ДХМ (30мл) додавали N-хлорсукцинімід (0,53г, 4,01ммоль). Реакцію потім нагрівали з дефлегматором та перемішували протягом 20 хвилин, потім охолоджували до кімнатної температури. Реакцію розбавляли ДХМ (400мл) та

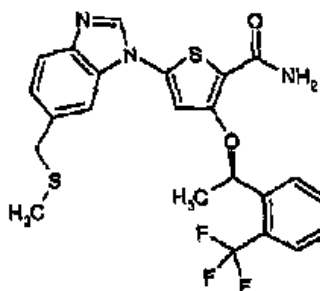
напівнасиченим водним розчином розсолу (150мл). Водний шар потім екстрагували ДХМ. Комбіновані органічні шари сушили над Na_2SO_4 , концентрували під вакуумом та очищали хроматографією на силікагелі, елюючи з градієнтом 10-до-60% EtOAc/гексанів, що давало 1,4г (92%) заголовної сполуки як білої твердої речовини. ^1H ЯМР (400МГц, DMCO-d_6): δ 8,65 (s, 1H), 7,99 (d, 1H, $J=7,87\text{Гц}$), 7,72-7,81 (m, 3H), 7,69 (s, 1H), 7,54 (t, 1H, $J=7,69\text{Гц}$), 7,43 (d, 1H, $J=8,42$), 7,38 (s, 1H), 5,97 (q, 1H, $J=6,10\text{Гц}$), 4,91 (s, 2H), 3,84 (s, 3H), 1,66 (d, 3H, $J \ll 6,23\text{Гц}$); МС (ESI): 495 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Етап I - Метил 5-[6-((метилтіо)метил)-1H-бензімідазол-1-іл]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)тіофен-2-карбоксилат



До перемішаної суміші метил 5-[6-(хлорметил)-1H-бензімідазол-1-іл]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)тіофен-2-карбоксилату (200 мг, 0,40ммоль) в N,N-диметилформаміді (2,5мл) додавали натрій тіометоксид (37 мг, 0,52ммоль). Реакцію перемішували 30хвил., потім розбавляли EtOAc, промивали водою (5х), розсол, сушили над Na_2SO_4 , концентрували під вакуумом та очищали хроматографією на силікагелі, елюючи з градієнтом 0-до-60% EtOAc/гексанів, що давало 147 мг (72%) заголовної сполуки як білої твердої речовини. МС (ESI): 507 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

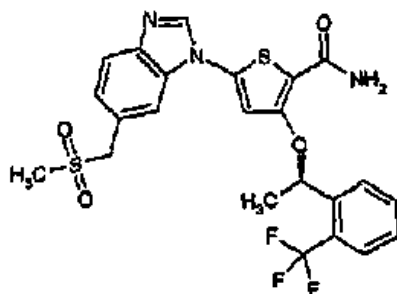
Етап J - 5-[6-((Метилтіо)метил)-1H-бензімідазол-1-іл]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)тіофен-2-карбоксамід



Суміш метил 5-[6-((метилтіо)метил)-1H-бензімідазол-1-іл]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)тіофен-2-карбоксилату (144,0 мг, 0,28ммоль) та 7N аміаку в MeOH (18мл, 126,0ммоль) додавали до реакційної склянки для високого тиску. Склянку герметизували, потім нагрівали до 80°C , приблизно, протягом 16год. Склянку охолоджували до кімнатної температури, відкривали, і реакційну суміш концентрували під вакуумом, потім очищали хроматографією на силікагелі, елюючи з градієнтом 0-до-3%

MeOH/ДХМ з 1% амоній гідроксидом, що давало 130 мг (93%) заголовної сполуки як біло-золотавої твердої речовини. ^1H ЯМР (400МГц, DMSO-d_6): δ 8,49 (s, 1H), 7,93 (d, 1H, $J=7,68\text{Гц}$), 7,85 (br s, 1H), 7,80-7,75 (m, 2H), 7,69 (d, 1H, $J=8,23\text{Гц}$), 7,56 (t, 1H, $J=7,68\text{Гц}$), 7,39 (s, 1H), 7,29 (d, 1H, $J=8,42\text{Гц}$), 7,15 (br s, 1H), 7,08 (s, 1H), 5,94 (m, 1H), 3,79 (s, 2H), 1,93 (s, 3H), 1,75 (d, 3H, $J=6,22\text{Гц}$); МС (ESI): 492 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

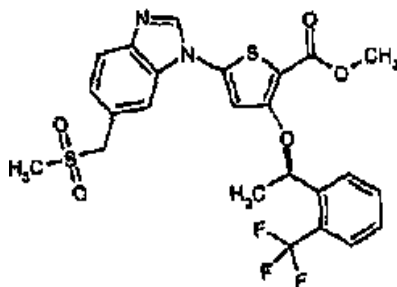
Етап К - 5-{6-[(Метилсульфоніл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)тіофен-2-карбоксамід



До перемішуваного, охолодженого (-10°C) розчину 5-{6-[(метилтіо)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)тіофен-2-карбоксаміду (76 мг, 0,15ммоль) у ДХМ (3,0мл) додавали м-хлорпероксибензойну кислоту (70 мг, 0,31ммоль). Реакцію перемішували 30хвил., нагрівали до кімнатної температури та перемішували 15хвил., потім концентрували під вакуумом. Залишок розбавляли хлороформом та промивали водним насиченим NaHCO_3 , водою, сушили над Na_2SO_4 , концентрували під вакуумом та очищали хроматографією на силікагелі, елюючи з градієнтом 0-до-5% MeOH/ДХМ з 1% амоній гідроксидом, що давало 78 мг (96%) заголовної сполуки як білої твердої речовини. ^1H ЯМР (400МГц, DMSO-d_6): δ 8,57 (s, 1H), 7,95 (d, 1H, $J=7,87\text{Гц}$), 7,85 (br s, 1H), 7,80-7,73 (m, 3H), 7,69 (s, 1H), 7,55 (t, 1H, $J=7,69\text{Гц}$), 7,38 (d, 1H, $J=8,42\text{Гц}$), 7,19 (s, 1H), 7,12 (br s, 1H), 5,95-5,89 (m, 1H), 4,61-4,58 (m, 2H), 2,89 (s, 3H), 1,75 (d, 3H, $J=6,04\text{Гц}$); МС (ESI): 524 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

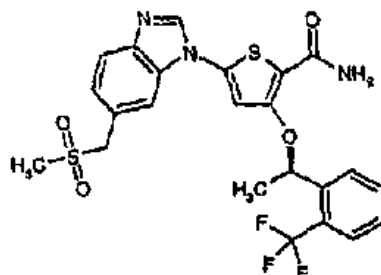
Шлях 2:

Етап А - Метил 5-{6-[(метилсульфоніл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксилат



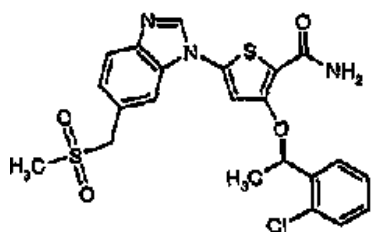
Суміш метил 5-{6-[(метилсульфоніл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)тіофен-2-карбоксилату (4,53г, з другої партії, застосовуючи процедуру, аналогічну наступному: приклад 1, шлях 1, етап Н, 9,17ммоль), натрієвої солі метансульфонової кислоти (2,81г, 27,5ммоль) та етанолу (40,0мл) додавали до реакційної склянки для високого тиску. Склянку герметизували, потім нагрівали до 85°C , приблизно, протягом 16год. Склянку охолоджували до кімнатної температури, відкривали, та реакційну суміш концентрували під вакуумом, потім очищали хроматографією на силікагелі, елюючи з градієнтом 5-до-35% EtOAc/гексану, що давало 4,54г (92%) заголовної сполуки як блідо-жовтої твердої речовини. ^1H ЯМР (400МГц, DMSO-d_6): δ 8,67 (s, 1H), 8,01 (d, 1H, $J=7,87\text{Гц}$), 7,82-7,70 (m, 4H), 7,53 (t, 1H, $J=7,69\text{Гц}$), 7,45 (s, 1H), 7,40 (d, 1H, $J=8,42\text{Гц}$), 5,95 (m, 1H), 4,63 (m, 2H), 3,83 (s, 3H), 2,90 (s, 3H), 1,65 (d, 3H, $J=6,204\text{Гц}$); МС (ESI): 539 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Етап В - 5-{6-[(Метилсульфоніл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)тіофен-2-карбоксамід

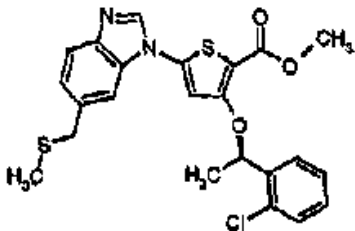


Суміш метил 5-{6-[(метилсульфоніл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксилату (4,53г, 8,42ммоль) та 7N аміаку в MeOH (250,0мл, 1,75ммоль) до додавали реакційної склянки для високого тиску. Склянку герметизували, потім нагрівали до 85°C протягом, приблизно, 36год. Склянку охолоджували до кімнатної температури, відкривали, та реакційну суміш комбінували з другою партією метил 5-{6-[(метилсульфоніл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксилату (4,11г, 7,63ммоль), котра також була оброблена 7N аміаком в MeOH (200,0мл, 1,40ммоль) у реакційній склянці для високого тиску при 85°C , приблизно, протягом 36год., потім охолоджували до кімнатної температури та відкривали. Комбіновані реакційні суміші концентрували під вакуумом, потім очищали хроматографією на силікагелі, елюючи з градієнтом 0-до-5% MeOH/ДХМ з 1% амоній гідроксидом, що давало 7,47г (89%) заголовної сполуки як небілої твердої речовини. МС (ESI): 524 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Приклад 2: Метил 3-(((1R)-1-(2-хлорфеніл)етил)окси)-5-{6-[(метилтіо)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}тіофен-2-карбоксилат

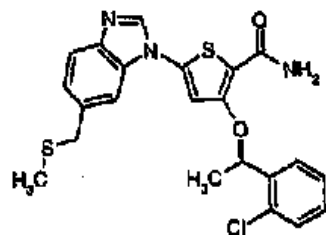


Етап А - Метил 3-{{{(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил}окси}-5-{6-[(метилтіо)метил]-1Н-бензімідазол-1-іл}тіофен-2-карбоксилат



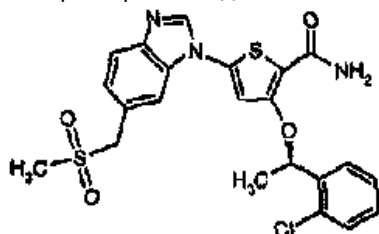
Заголовну сполуку отримували з метил 5-[6-(хлорметил)-1Н-бензімідазол-1-іл]-3-{{{(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил}окси}тіофен-2-карбоксилату за процедурою, аналогічно наведеній: приклад 1, шлях 1, етап І. МС (ESI): 473 [M+H]⁺.

Етап В - 3-{{{(1R)-1-(2-Хлорфеніл)етил}окси}-5-{6-[(метилтіо)метил]-1Н-бензімідазол-1-іл}тіофен-2-карбоксамід



Заголовну сполуку отримували з метил 3-{{{(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил}окси}-5-{6-[(метилтіо)метил]-1Н-бензімідазол-1-іл}тіофен-2-карбоксилату за процедурою, аналогічно наведеній: приклад 1, шлях 1, етап J. ¹H ЯМР (400МГц, DMSO-d₆): δ 8,53 (s, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,71-7,66 (m, 2H), 7,49 (d, 1H, J=7,87Гц), 7,45-7,35 (m, 3H), 7,29 (d, 1H, J=8,42Гц), 7,16-7,11 (m, 2H), 6,01-5,95 (m, 1H), 3,82 (s, 2H), 1,94 (s, 3H), 1,73 (d, 3H, J=6,41Гц); МС (ESI): 458 [M+H]⁺.

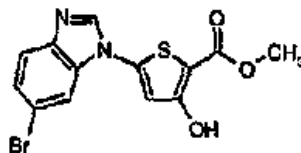
Етап С - 3-{{{(1R)-1-(2-Хлорфеніл)етил}окси}-5-{6-[(метилсульфоніл)метил]-1Н-бензімідазол-1-іл}-2-тіофенкарбоксамід



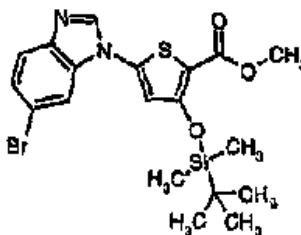
Заголовну сполуку отримували з 3-{{{(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил}окси}-5-{6-[(метилтіо)метил]-1Н-бензімідазол-1-іл}тіофен-2-карбоксаміду за процедурою, аналогічно наведеній: приклад 1, шлях 1, етап К. ¹H ЯМР (400МГц, DMSO-d₆): δ 8,61 (s, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,79 (d, 1H, J=8,24Гц), 7,73 (s, 1H),

7,70-7,67 (m, 1H), 7,49-7,47 (m, 1H), 7,44-7,33 (m, 3H), 7,26 (s, 1H), 7,12 (s, 1H), 5,97-5,93 (m, 1H), 4,64-4,60 (m, 2H), 2,90 (s, 3H), 1,73 (d, 3H, J=6,41Гц); МС (ESI): 490 [M+H]⁺.

Приклад інтермедіату 3: Метил 5-(6-бромо-1Н-бензімідазол-1-іл)-3-гідрокси-2-тіофенкарбоксилат

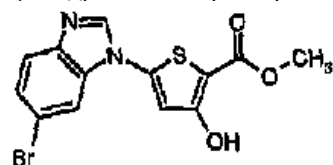


Етап А - Метил 5-(6-бромо-1Н-бензімідазол-1-іл)-3-{{{(1,1-диметилетил)(диметил)силіл}окси}-2-тіофенкарбоксилат



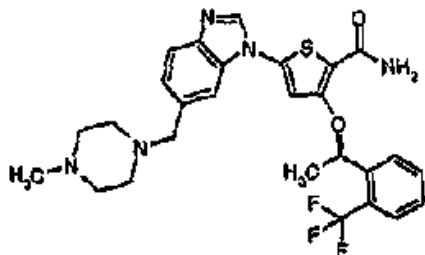
До суміші 5-бромо-1-бензімідазол (43,78г, 222,0ммоль) у хлороформі (800мл) додавали N-метилімідазол (44,5мл, 560,0ммоль), а потім - метил 2-хлоро-3-оксо-2,3-дигідро-2-тіофенкарбоксилат (44,8г, 233,0ммоль). Реакцію перемішували 20год. при кімнатній температурі, потім додавали N-метилімідазол (18,0мл, 226,0ммоль), а потім - т-бутилдиметилсилілхлорид (36,8г, 245,0ммоль). Реакцію перемішували 1год., потім гасили MeOH та заливали у ДХМ та воду. Водний шар екстрагували ДХМ (3х). Комбіновану органіку потім сушили над Na₂SO₄, концентрували та хроматографували на силікагелі, елюючи з градієнтом 50-до-75% 25% EtOAc в гексані/гексані, що давало 25,18г (24%) заголовної сполуки. МС (ESI): 467 [M+H]⁺.

Етап В - Метил 5-(6-бромо-1Н-бензімідазол-1-іл)-3-гідрокси-2-тіофенкарбоксилат



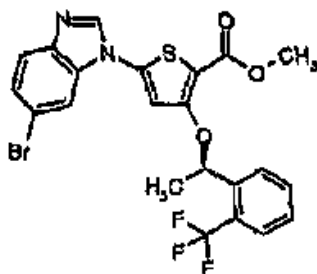
До перемішаного розчину метил 5-(6-бромо-1-бензімідазол-1-іл)-3-{{{(1,1-диметилетил)(диметил)силіл}окси}-2-тіофенкарбоксилату (25,18г, 53,9ммоль) в ТГФ (540,0мл) додавали 1,0М тетрабутиламоній флуорид у ТГФ (60,0мл, 60,0ммоль). Реакцію перемішували 1,5год. потім додавали водний насичений NH₄Cl (200мл). Отриману кашку перемішували 15хвил. потім розбавляли водою (750мл) та EtOAc (1,0л). Водний шар відокремлювали та його pH регулювали до 3,0 додаванням водної 1М HCl. Водний шар потім екстрагували EtOAc (3х). Комбіновані органічні шари промивали водною 0,1М HCl, розсолон, сушили над MgSO₄ та концентрували під вакуумом, що давало 19,4г (100%) заголовної сполуки як блідо-жовтої твердої речовини. МС (ESI): 353 [M+H]⁺.

Приклад 3: 5-[6-[4-Метилпіперазин-1-іл)метил]-1Н-бензімідазол-1-іл]-3-((1R)-1-[2-(трифлуорометил)феніл]етокси)тіофен-2-карбоксамід



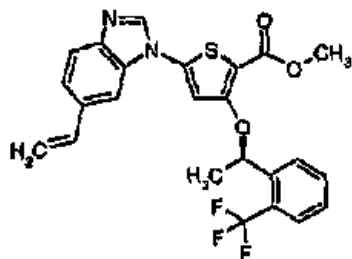
Шлях 1:

Етап А - 3-Метил 5-(6-бромо-1Н-бензімідазол-1-іл)-3-((1R)-1-[2-(трифлуорометил)феніл]етокси)тіофен-2-карбоксилат



Кашка закріпленого полімері трифенілфосфіну (53,0г, 2,04ммоль/г, 108ммоль), (1S)-1-[2-(трифлуорометил)феніл]етанолю (15,4г, 81,0ммоль), та метил 5-(6-бромо-1Н-бензімідазол-1-іл)-3-гідрокситіофен-2-карбоксилату (приклад інтермедіату 3) (19,0г, 53,9ммоль) у ДХМ (750мл) перемішували при кімнатній температурі протягом 10хв. Кашку потім обробляли ди-трет-бутилазодикарбоксилатом (4,8г, 108ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 3год., потім переливали через паперовий фільтр, промиваючи твердий смоляний залишок ДХМ та MeOH. Фільтрат концентрували під вакуумом та очищали хроматографією на силікагелі, елюючи з градієнтом 5-до-50% EtOAc/гексану, що давало 23,8г (84%) заголовної сполуки як біло-жовтої твердої речовини. ^1H ЯМР (400МГц, DMSO-d_6): δ 8,63 (s, 1H), 7,97 (d, 1H, $J=7,87\text{Гц}$), 7,80-7,71 (m, 3H), 7,65 (d, 1H, $J=1,65\text{Гц}$), 7,57-7,48 (m, 2H), 7,35 (s, 1H), 5,99 (q, 1H, $J=5,98\text{Гц}$), 3,83 (s, 3H), 1,65 (d, 3H, $J=6,04\text{Гц}$); MC (ESI): 525 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Етап В - Метил 3-((1R)-1-[2-(трифлуорометил)феніл]етокси)-5-(6-вініл-1Н-бензімідазол-1-іл)тіофен-2-карбоксилат

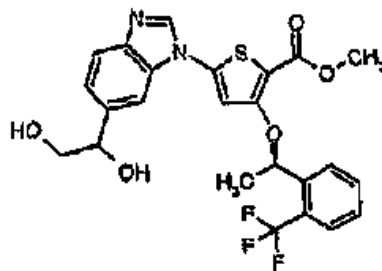


До суміші 3-метил-5-(6-бромо-1Н-бензімідазол-1-іл)-3-((1R)-1-[2-

(трифлуорометил)феніл]етокси)тіофен-2-карбоксилату (23,8г, 45,4ммоль), калій вінілтрифлуороборату (7,25г, 54,5ммоль) та триетиламіну (6,3мл, 45,4ммоль), перемішували при кімнатній температурі в н-пропанолі (230мл) додавали комплекс

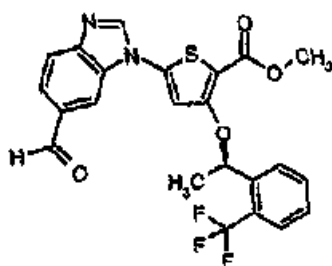
[1,1'-біс(дифенілфосфін)фероцен]дихлорпаладій(II)дихлорметан (750 мг, 0,91ммоль). Суміш потім нагрівали з дефлегматором та перемішували протягом 3год., потім охолоджували до кімнатної температури, заливали у воду та екстрагували EtOAc (3х). Комбіновані органічні шари промивали розсоллом, сушили над MgSO_4 , концентрували під вакуумом та очищали хроматографією на силікагелі, елюючи з градієнтом 10-до-40% EtOAc/гексану, що давало 17,06г (80%) заголовної сполуки як жовтої твердої піни. ^1H ЯМР (400МГц, DMSO-d_6): δ 8,59 (s, 1H), 7,98 (d, 1H, $J=7,87\text{Гц}$), 7,80-7,71 (m, 3H), 7,59 (s, 1H), 7,56-7,52 (m, 2H), 7,39 (s, 1H), 6,85 (dd, 1H, $J=10,98$ та $17,75\text{Гц}$), 6,00 (q, 1H, $J=6,10\text{Гц}$), 5,86 (d, 1H, $J=17,56\text{Гц}$), 5,31 (d, 1H, $J=10,98\text{Гц}$), 3,83 (s, 3H), 1,65 (d, 3H, $J=6,04\text{Гц}$); MC (ESI): 473 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Етап С - Метил 5-[6-(1,2-дигідроксиетил)-1Н-бензімідазол-1-іл]-3-((1R)-1-[2-(трифлуорометил)феніл]етокси)тіофен-2-карбоксилат



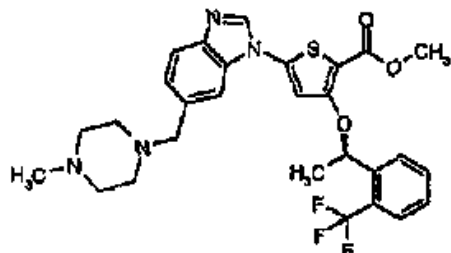
До перемішувального розчину метил 3-((1R)-1-[2-(трифлуорометил)феніл]етокси)-5-(6-вініл-1Н-бензімідазол-іл)тіофен-2-карбоксилату (17,06г, 36,1ммоль) в 360мл ацетону/води (3:1) додавали 4-метилморфолін N-оксид (5,1г, 43,4ммоль) а потім - 2,5 мас.% розчину осмії тетроксиду в 2-метил-2-пропанолі (10,0мл, 0,8ммоль). Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 18год., потім гасили водним (насиченим) натрій сульфідом. Суміш екстрагували EtOAc (3х). Комбіновані органічні шари промивали розсоллом, сушили над MgSO_4 , концентрували під вакуумом та очищали хроматографією на силікагелі, елюючи з градієнтом 1-до-8% MeOH/ДХМ з 1% амоній гідроксидом, що давало 16,72г (92%) заголовної сполуки як світло-жовтої твердої піни. ^1H ЯМР (400МГц, DMSO-d_6): δ 8,59 (d, 1H, $J=1,46\text{Гц}$), 7,98 (d, 1H, $J=7,87\text{Гц}$), 7,80-7,68 (m, 3H), 7,59-7,52 (m, 2H), 7,36-7,31 (m, 2H), 5,95 (q, 1H, $J=6,10\text{Гц}$), 5,37 (t, 1H, $J=3,66\text{Гц}$), 4,76-4,64 (m, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,46-3,42 (m, 2H), 1,65 (d, 3H, $J=6,04\text{Гц}$); MC (ESI): 507 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Етап D - Метил 5-(6-форміл-1Н-бензімідазол-1-іл)-3-((1R)-1-[2-(трифлуорометил)феніл]етокси)тіофен-2-кабоксилат



До розчину метил 5-[6-(1,2-дигідроксиетил)-1H-бензімідазол-1-іл]-3-((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етокси)тіофен-2-карбоксилату (16,72г, 33,0ммоль) в 1:1:1 ДСМА/вода/MeOH (220мл) додавали натрій періодат (10,58г, 49,5ммоль). Отриману кашку перемішували протягом 1год., потім розбавляли водою та EtOAc. Водний шар екстрагували EtOAc (3x). Комбіновані органічні шари промивали розсоллом, сушили над $MgSO_4$ та концентрували під вакуумом, що давало 14,76г (94%) заголовної сполуки як світло-жовтої твердої піни. 1H ЯМР (400МГц, $DMCO-d_6$): δ 10,09 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 8,19 (s, 1H), 8,02-7,89 (m, 3H), 7,81-7,72 (m, 2H), 7,57-7,51 (m, 2H), 5,98 (q, 1H, $J=6,10$ Гц), 3,84 (s, 3H), 1,66 (d, 3H, $J=6,22$ Гц); МС (ESI): 475 $[M+H]^+$

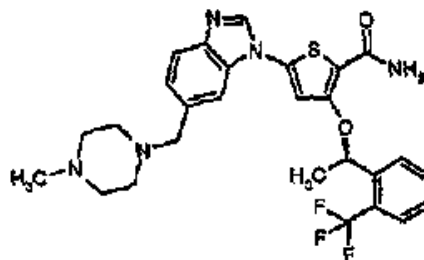
Етап Е - Метил 5-[6-[(4-метилпіперазин-1-іл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл]-3-((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етокси)тіофен-2-карбоксилат



До перемішуваного розчину метил 5-(6-форміл-1H-бензімідазол-іл)-3-((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етокси)тіофен-2-карбоксилату (14,76г, 31,1ммоль), N-метилпіперазину (5,72мл, 62,3ммоль) та оцтової кислоти (2,1мл, 37,4ммоль) в дихлоретані (150мл) додавали натрій триацетоксиборгідрид (9,9г, 46,7ммоль). Реакцію перемішували протягом 1,5год., потім додавали 5% водний K_2CO_3 , приблизно, до pH 8. Суміш потім розбавляли EtOAc та водою. Водний шар екстрагували EtOAc (3x). Комбіновані органічні шари промивали розсоллом, сушили над Na_2SO_4 , концентрували під вакуумом та очищали хроматографією на силікагелі, елюючи з градієнтом 1-до-8% MeOH/ДХМ з 1% амоній гідроксидом, що давало 15,82г (91 %) заголовної сполуки як світло-жовтої твердої піни. 1H ЯМР (400МГц, $DMCO-d_6$): δ 8,57 (s, 1H), 7,98 (d, 1H, $J=7,87$ Гц), 7,80-7,68 (m, 3H), 7,54 (t, 1H, $J=7,59$ Гц), 7,46 (s, 1H), 7,33-7,28 (m, 2H), 5,97 (q, 1H, $J=6,16$ Гц), 3,83 (s, 3H), 3,55 (s, 2H), 2,45-2,20 (m, 8H), 2,13 (s, 3H), 1,66 (d, 3H, $J=6,04$ Гц); МС (ESI): 559 $[M+H]^+$

Етап F- 5-[6-[(4-Метилпіперазин-1-іл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл]-3-((1R)-1-[2-

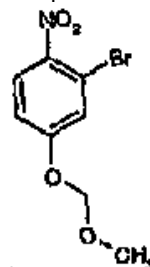
(трифлуорметил)феніл]етокси)тіофен-2-карбоксамід



Суміш метил 5-[6-[(4-метилпіперазин-1-іл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл]-3-((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етокси)тіофен-2-карбоксилату (15,82г, 28,35ммоль) та 7N аміаку в MeOH (250мл, 1,75ммоль) додавали до реакційної склянки для високого тиску. Склянку герметизували, потім нагрівали до 80°C протягом, приблизно, 40год. Склянку охолоджували до кімнатної температури, відкривали та реакційну суміш концентрували під вакуумом, потім очищали хроматографією на силікагелі, елюючи з градієнтом 2-до-8% MeOH/ДХМ з 1% амоній гідроксидом, що давало 14,11г (92%) заголовної сполуки як білої твердої піни. 1H ЯМР (400МГц, $DMCO-d_6$): δ 8,49 (s, 1H), 7,93 (d, 1H, $J=7,87$ Гц), 7,86 (brs, 1H), 7,80-7,75 (m, 2H), 7,68 (d, 1H, $J=8,23$ Гц), 7,56 (t, 1H, $J=7,68$ Гц), 7,33 (s, 1H), 7,28 (d, 1H, $J=8,42$ Гц), 7,15 (brs, 1H), 7,06 (s, 1H), 5,94 (q, 1H, $J=6,10$ Гц), 3,52 (s, 2H), 2,45-2,20 (m, 8H), 2,13 (s, 3H), 1,74 (d, 3H, $J=6,22$ Гц); МС (ESI): 544 $[M+H]^+$

Шлях 2:

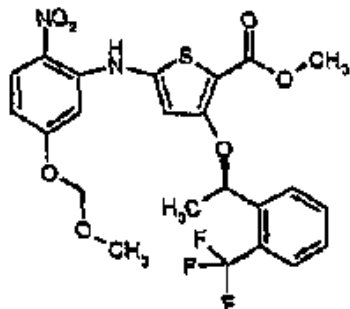
Етап А - 2-Бromo-4-[[[(метилокси)метил]окси]-1-нітробензол



Розчин 3-бромо-4-нітрофенолу (20,0г, 91,7ммоль) у ДХМ (475мл) перемішували при 0°C. Додавали діізопропілетиламін (19,2мл, 110,0ммоль), а потім краплями додавали розчин хлорметил-метил-етеру (7,7мл, 100,9ммоль) у ДХМ (25мл). Реакцію перемішували при 0°C протягом 1год., потім нагрівали до кімнатної температури та гасили водою (150мл). Суміш заливали в розсол (150мл) та водний шар екстрагували EtOAc (3x). Комбіновані органічні шари промивали розсоллом, сушили над $MgSO_4$, концентрували під вакуумом та хроматографували на силікагелі (330 г), елюючи з градієнтом 0-до-25% EtOAc/гексану, що давало 20,0г (83%) заголовної сполуки як прозорої оранжевої олії. 1H ЯМР (400МГц, $DMCO-d_6$): δ 8,07 (d, 1H, $J=8,97$ Гц), 7,50 (d, 1H, $J=2,20$ Гц), 7,21 (dd, 1H, $J=8,97$ та 2,38Гц), 5,34 (s, 2H), 3,39 (s, 3H).

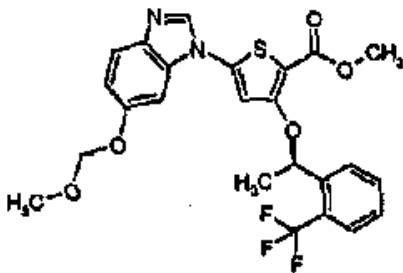
Етап В - Метил 5-[(5-[[[(метилокси)метил]окси]-2-нітрофеніл)амін]-3-((1R)-1-[2-

(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксилат



До перемішаного розчину метил 5-аміно-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксилату (1,32г, 3,82ммоль) та 2-бromo-4-[[[(метилокси)метил]окси]-1-нітробензолу (1,0г, 3,82ммоль) в діоксані (20мл) додавали трис(дибензиліденацетон)дипаладій(0) (70,0 мг, 0,076ммоль) та XANTPHOS (97,0 мг, 0,17ммоль), а потім - цезій карбонат (6,2г, 19,0ммоль). Суміш нагрівали до 60°C та перемішували протягом 12год., потім охолоджували до кімнатної температури, розбавляли EtOAc та фільтрували через Целіт, промиваючи сухий залишок EtOAc та ДХМ. Фільтрат концентрували під вакуумом та хроматографували на силікагелі (120 г), елюючи з градієнтом 5-до-35% EtOAc/гексану, що давало 1,64г (82%) заголовної сполуки як червоної олії. ¹H ЯМР (400МГц, DMSO-d₆): δ 9,85 (s, 1H), 8,12 (d, 1H, J=9,33Гц), 7,90 (d, 1H, J=7,87Гц), 7,74 (m, 2H), 7,53 (t, 1H, J=7,68Гц), 6,84 (d, 1H, J=2,56Гц), 6,73-6,68 (m, 2H), 5,77-5,72 (m, 1H), 5,23 (s, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,37 (s, 3H), 1,58 (d, 3H, J=6,22Гц); MC (ESI): 527 [M+H]⁺.

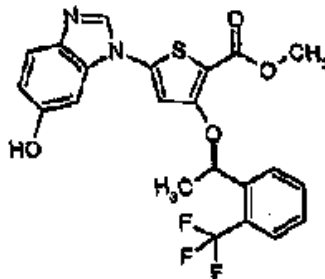
Етап С - Метил 5-(6-[[[(метилокси)метил]окси]-1H-бензімідазол-1-іл]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксилат



До реакційної склянки для гідрогенізації під високим тиском додавали метил 5-[[[(метилокси)метил]окси)-2-нітрофеніл]аміно]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксилат (2,0г, 3,8ммоль), піридиніум п-толуолсульфонат (95,0 мг, 0,38ммоль), 5% за масою платину на вуглецю (сульфидовану) (740 мг, 0,19ммоль) та триметилортоформіат (40мл). Склянку очищали N₂ (газом), вакуумом (3х), потім - H₂ (газом)/вакуумом (3х). Потім застосовували газ H₂ при 50 фунт/кв.дюйм протягом 3год. Реакційну суміш потім фільтрували через Целіт, промиваючи сухий залишок EtOAc та ДХМ. Фільтрат потім концентрували під вакуумом до 1,92г (100%) заголовної сполуки як світло-жовтої твердої піни. ¹H ЯМР

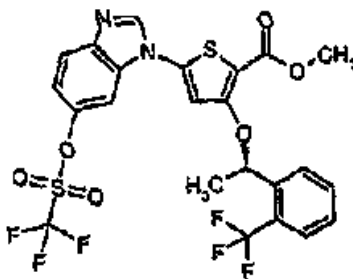
(400МГц, DMSO-d₆): δ 8,49 (s, 1H), 7,98 (d, 1H, J=8,05Гц), 7,79-7,66 (m, 3H), 7,53 (t, 1H, J=7,59Гц), 7,35 (s, 1H), 7,22 (d, 1H, J=2,20Гц), 7,06 (dd, 1H, J=8,78 та 2,20Гц) 5,97 (q, 1H, J=6,04Гц), 5,23 (s, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,39 (s, 2H), 1,65 (d, 3H, J=6,22Гц); MC (ESI): 507 [M+H]⁺.

Етап D - Метил 5-(6-гідрокси-1H-бензімідазол-1-іл)-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксилат



До перемішаного розчину метил 5-(6-[[[(метилокси)метил]окси]-1H-бензімідазол-1-іл]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксилату (8,18г, друга партія, застосовуючи процедуру, аналогічну наступному: приклад 3, шлях 2, етап С, 16,16ммоль) в 1:1 ТГФ/MeOH (130мл) додавали 1N HCl у воді (65мл, 65,0ммоль). Реакційну суміш нагрівали до 35°C та перемішували протягом 72год., потім охолоджували до кімнатної температури. Реакцію заливали в ДХМ (500мл) та додавали воду (100мл). Суміш нейтралізували до pH 7 додаванням водного (насиченого) NaHCO₃. Водний шар потім екстрагували ДХМ (1х) та EtOAc (1х). Комбіновані органічні шари сушили над MgSO₄, концентрували під вакуумом, та хроматографували на силікагелі (120 г), елюючи з градієнтом 10 - 60% EtOAc/гексану, що давало 6,9г (92%) заголовної сполуки як світлої оранжево-рожевого кольору твердої піни. ¹H ЯМР (400МГц, DMSO-d₆): δ 9,62 (s, 1H), 8,41 (s, 1H), 8,00 (d, 1H, J=7,87Гц), 7,80-7,71 (m, 2H), 7,56-7,51 (m, 2H), 7,38 (s, 1H), 7,05 (d, 1H, J=2,01Гц), 6,81 (dd, 1H, J=8,70 та 2,11Гц) 5,95 (m, 1H), 3,83 (s, 3H), 1,64 (d, 3H, J=6,23Гц); MC (ESI): 463 [M+H]⁺.

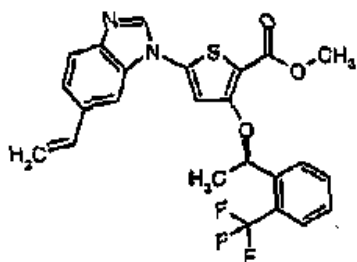
Етап E - Метил 3-(((1R)-1-[2-(трифлуорометил)феніл]етил)окси)-5-(6-[[[(трифлуорметил)сульфоніл]окси]-1H-бензімідазол-1-іл]-2-тіофенкарбоксилат



До перемішаного, охолодженого (0°C) розчину метил 5-(6-гідрокси-1H-бензімідазол-1-іл)-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксилату (2,49г, 5,38ммоль) та N-фенілтрифлуорметансульфонамід (2,06г, 5,76ммоль) у ДХМ (30мл) додавали діізопропіле-

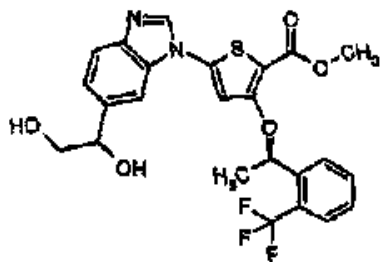
тиламін (2,0мл, 11,5ммоль). Реакції дозволяли нагрітися до кімнатної температури й перемішували протягом 12год. Реакційну суміш потім концентрували під вакуумом та хроматографували на силікагелі (120 г), елюючи з градієнтом 5-до-40% EtOAc/гексану, що давало 3,12г (98%) заголовної сполуки як блідо-жовтої твердої речовини. ^1H ЯМР (400МГц, ДМСО- d_6): δ 8,76 (s, 1H), 8,01-7,94 (m, 2H), 7,80-7,70 (m, 3H), 7,56-7,43 (m, 3H), 5,98 (q, 1H, $J=6,10\text{Гц}$), 3,84 (s, 3H), 1,65 (d, 3H, $y=6,22\text{Гц}$); MC (ESI): 595 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Етап F - 3-((1R)-1-[2-(Трифлуорметил)феніл]етокси)-5-(6-вініл-1H-бензімідазол-1-іл)тіофен-2-карбоксилат



До суміші метил 3-((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-5-(6-[[[трифлуорметил]сульфоніл]окси]-1H-бензімідазол-1-іл)-2-тіофенкарбоксилату (20,69г, з другої партії, застосовуючи процедуру, аналогічну наступному: приклад 3, шлях 2, етап E, 34,83ммоль), калій вінілтрифлуорборату (5,6г, 42,10ммоль) та триетиламіну (4,85мл, 34,86ммоль), перемішуваної при кімнатній температурі в н-пропанолі (175мл), додавали [1,1'-комплекс біс(дифенілфосфін)-фероцен]дихлорпаладій(II) дихлорметан (570 мг, 0,70ммоль). Потім суміш нагрівали з дефлегматором та перемішували протягом 3год., потім охолоджували до кімнатної температури, заливали у воду та екстрагували EtOAc (3x). Комбіновані органічні шари промивали розсоллом, сушили над MgSO_4 , концентрували під вакуумом та очищали хроматографією на силікагелі, елюючи з градієнтом 10-до-50% EtOAc/гексану, що давало 12,98г (79%) заголовної сполуки як світло-жовтої твердої піни. MC (ESI): 473 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

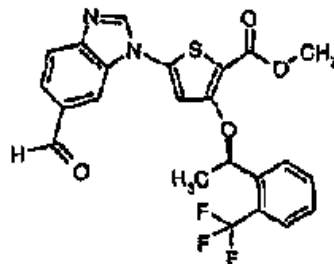
Етап G - Метил 5-[6-(1,2-дигідроксиетил)-1H-бензімідазол-1-іл]-3-((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етокси)тіофен-2-карбоксилат



Заголовну сполуку можна отримувати за процедурою, аналогічною наведеній: приклад 3, шлях 1, етап C.

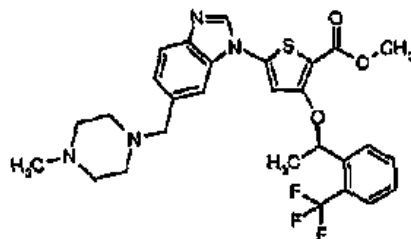
Етап H - Метил 5-(6-форміл-1H-бензімідазол-1-іл)-3-((1R)-1-[2-

(трифлуорметил)феніл]етокси)тіофен-2-карбоксилат



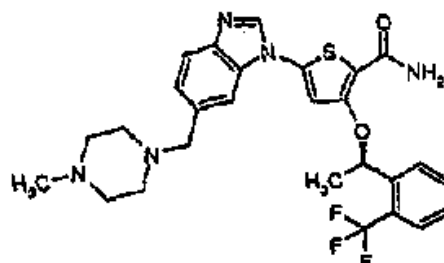
Заголовну сполуку можна отримувати за процедурою, аналогічною наведеній: приклад 3, шлях 1, етап D.

Етап I - Метил 5-{6-[(4-метилпіперазин-іл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}-3-((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етокси)тіофен-2-карбоксилат



Заголовну сполуку можна отримувати за процедурою, аналогічною наведеній: приклад 3, шлях 1, етап E.

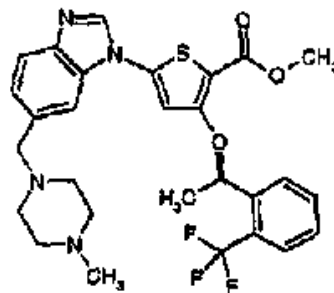
Етап J - 5-{6-[(4-Метилпіперазин-1-іл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}-3-((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етокси)тіофен-2-карбоксамід



Заголовну сполуку можна отримувати за процедурою, аналогічною наведеній: приклад 3, шлях 1, етап F.

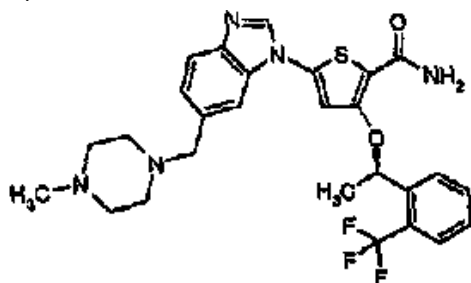
Шлях 3:

Етап A - Метил 5-{6-[(4-метилпіперазин-1-іл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}-3-((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)тіофен-2-карбоксилат



До перемішаного розчину метил 5-[6-(хлорметил)-1Н-бензімідазол-1-іл]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)тіофен-2-карбоксилату (150 мг, 0,30ммоль) в діоксані (1,0мл) додавали N-метилпіперазин (50мкл, 0,45ммоль). Реакцію нагрівали при 60°C протягом 18год., охолоджували до кімнатної температури та концентрували під вакуумом. Залишок розчиняли в EtOAc та воді. Водний шар екстрагували EtOAc. Комбіновані органічні шари промивали розсолем, сушили над натрій сульфатом, концентрували під вакуумом, та очищали хроматографією на силікагелі, елюючи з градієнтом 0-до-10% MeOH/ДХМ з 1% амоній гідроксидом, що дало 134 мг (79%) заголовної сполуки як білої твердої речовини. МС (ESI): 559 [M+H]⁺.

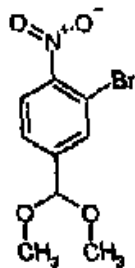
Етап В - 5-[6-[(4-Метилпіперазин-1-іл)метил]~1Н-бензімідазол-1-{2-(трифлуорметил)феніл]етокси}тіофен-2-карбоксамід



Заголовну сполуку можна отримувати за процедурою, аналогічною наведеній: приклад 3, шлях 1, етап F.

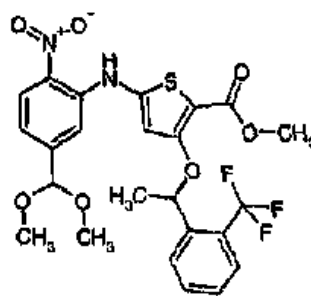
Шлях 4:

Етап А - 4-[Біс(метилокси)метил]-2-бromo-1-нітробензол



Розчин 3-бromo-4-нітробензальдегіду (7,97г, 34,6ммоль), котрий отримували способом, аналогічним описаному в літературі (Katritzky, A.R.; Xie, L. Tetrahedron Letters 1996, 37, 347-350), триметилортоформіату (11,4мл, 104ммоль), та гідрату п-толуолсульфонової кислоти (329 мг, 1,73ммоль) в MeOH (69мл) нагрівали з дефлегматором протягом 3год. Потім реакцію гасили додаванням насиченого водного амоній гідроксиду (1мл) та концентрували на силікагелі. Очищення хроматографією на колонці (10 - 25% EtOAc:гексани) постачало 8,76г (92%) заголовної сполуки як оранжевої олії. ¹H ЯМР (300МГц, CDCl₃): δ 7,89 (m, 2H), 7,59 (m, 1H), 5,47 (s, 1H), 3,38 (s, 6H).

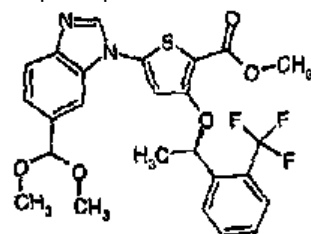
Етап В - Метил 5-([5-[біс(метилокси)метил]-2-нітрофеніл]аміно)-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксилат



Розчин

трис(дибензиліденацетон)дипаладію(0) (117 мг, 0,127ммоль), 9,9-диметил-4,5-біс(дифенілфосфін)ксантену (162 мг, 0,280ммоль), метил 5-аміно-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксилату (2,31г, 6,69ммоль), 4-[біс(метилокси)метил]-2-бromo-1-нітробензолу (1,76г, 6,37ммоль) та цезій карбонату (10,39г, 31,89ммоль) в 1,4-діоксані (25мл) отримували в круглодонній колбі під N₂. Колбу вакуумували та три рази перенаповнювали N₂ і потім перемішували при 60°C протягом 16год. Реакційну суміш потім розбавляли тетрагідрофураном (100мл) та концентрували на силікагелі. Очищення хроматографією на колонці (5 - 75% EtOAc:гексани) постачало 2,79г (81%) заголовної сполуки як червоної піни. ¹H ЯМР (300МГц, CDCl₃): δ 9,63 (br s, 1H), 8,21 (m, 1H), 7,94 (m, 1H), 7,62 (m, 2H), 7,48 (s, 1H), 7,40 (m, 1H), 7,02 (m, 1H), 6,47 (s, 1H), 5,73 (q, 1H, J=6,2Гц), 3,88 (s, 3H), 3,34 (s, 1H), 3,31 (s, 3H), 3,28 (s, 3H), 1,72 (d, 3H, J=6,2Гц); МС (ESI): 541 [M+H]⁺.

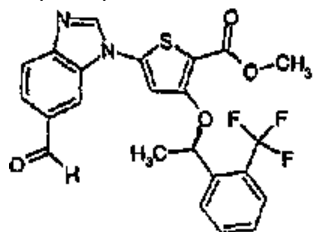
Етап С - Метил 5-([5-[біс(метилокси)метил]-1Н-бензімідазол-1-іл]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксилат



До розчину метил 5-([5-[біс(метилокси)метил]-2-нітрофеніл]аміно)-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксилату (2,71г, 5,01ммоль) в триметилортоформіаті (50мл) в склянці Фішера-Портєра додавали піридиніум п-толуолсульфонат (126 мг, 0,501ммоль) та сульфидовану платину на вуглецю (5 мас.% Pt, 977 мг, 0,250ммоль Pt). Суміш гідрогенізували на апараті для гідрогенізації Фішера-Портєра при 50 фунт/кв.дюйм водню до припинення поглинання водню (17год.). Реакційну суміш фільтрували через спечений пористий скляний фільтр для видалення каталізатору, промиваючи ДХМ (75мл). Елюент концентрували, що давало 2,61г (100%) сирової заголовної сполуки як оранжевої олії, котру застосовували в наступному етапі без очищення. МС (ESI): 521 [M+H]⁺.

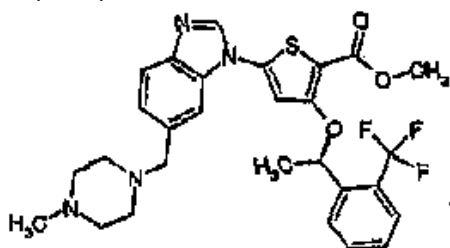
Етап D - Метил 5-(6-форміл-1Н-бензімідазол-1-іл)-3-(((1R)-1-[2-

(трифлуорметил)феніл]етил}окси)-2-тіофенкарбоксилат



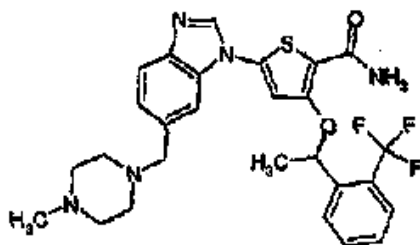
До розчину сирого метил 5-{6-[біс(метилокси)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}-3-[[1-(2-хлорфеніл)етил]окси)-2-тіофенкарбоксилату (2,61г, 5,01ммоль) (з етапу С, вище) в ацетоні (20мл) та воді (5мл) додавали піридиніум п-толуолсульфонат (126 мг, 0,501ммоль). Реакцію перемішували протягом 2год. при кімнатній температурі та потім заливали у воду (30мл) та насичений водний NaHCO_3 (30мл). Суміш екстрагували ДХМ (2 x 30мл). Комбіновані органічні фракції сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували на силікагелі. Очищення хроматографією на колонці (30 - 100% EtOAc:гексани) постачало 1,37г (58%, 2 етапи) заголовної сполуки як блідо-жовтої твердої речовини. ^1H ЯМР (300МГц, CDCl_3): δ 10,06 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 7,96-7,88 (m, 4H), 7,72-7,61 (m, 2H), 7,44 (m, 1H), 6,82 (s, 1H), 5,84 (q, 1H, $J=6,3\text{Гц}$), 3,95 (s, 3H), 1,79 (d, 3H, $J=6,3\text{Гц}$); МС (ESI): 475 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Етап В - Метил 5-{6-[(4-метилпіперазиніл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}-3-[[1-(2-хлорфеніл)етил]окси)-2-тіофенкарбоксилат



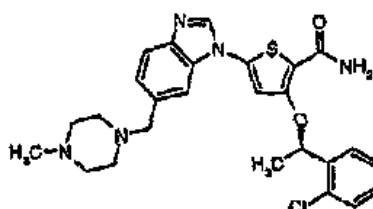
Заголовну сполуку можна отримувати за процедурою, аналогічною наведеним: приклад 3, шлях 1, етап Е.

Етап F - 5-{6-[(4-Метилпіперазин-1-іл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}-3-[[1-(2-хлорфеніл)етил]окси)-2-тіофенкарбоксамід

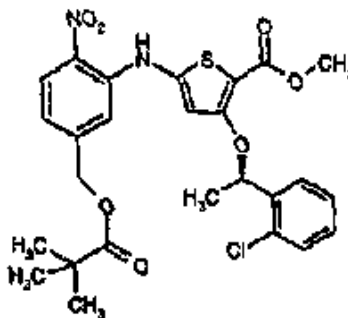


Заголовну сполуку можна отримувати за процедурою, аналогічною наведеним: приклад 3, шлях 1, етап F.

Приклад 4: 3-[[1-(2-Хлорфеніл)етил]окси)-5-{6-[(4-метилпіперазин-1-іл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл}тіофен-2-карбоксамід

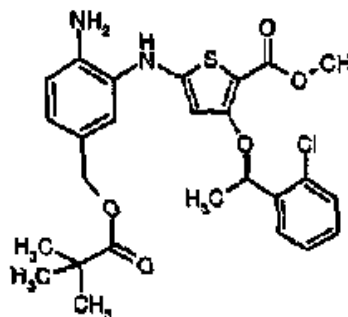


Етап А-Метил 3-[[1-(2-хлорфеніл)етил]окси)-5-[[1-(2,2-диметилпропанол)окси]метил]-2-тіофенкарбоксилат



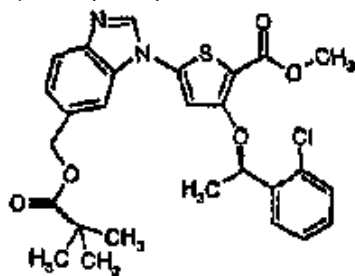
До суміші (4-нітро-3-[[1-(2-хлорфеніл)етил]окси]-5-[[1-(2,2-диметилпропанол)окси]метил]-2-тіофенкарбоксилату (приклад інтермедіату 2) (860 мг, 2,75ммоль), трис(дибензиліденацетон)дипаладію(0) (70,0 мг, 0,076ммоль), та XANTPHOS (90,0 мг, 0,16ммоль) додавали толуол (7,0мл). Починали перемішування, а потім додавали цезій карбонат (2,95г, 9,1ммоль). Реакцію нагрівали до 60°C та перемішували протягом 30хвил., потім охолоджували до кімнатної температури, розбавляли EtOAc та фільтрували через Целіт, промиваючи сухий залишок EtOAc та ДХМ. Фільтрат концентрували під вакуумом та хроматографували на силікагелі (40 г), елюючи з градієнтом 5-до-15% ацетону/гексану, що давало 920 мг (65%) заголовної сполуки як червоної твердої речовини. ^1H ЯМР (400МГц, DMCO-d_6): δ 9,77 (s, 1H), 8,09 (d, 1H, $J=8,61\text{Гц}$), 7,63 (dd, 1H, $J=7,69$ та $1,65\text{Гц}$), 7,46-7,30 (m, 4H), 7,01 (dd, 1H, $J=8,79$ та $1,47\text{Гц}$), 6,67 (s, 1H), 5,76-5,70 (m, 1H), 5,09 (s, 2H), 3,73 (s, 3H), 1,56 (d, 3H, $J=6,23\text{Гц}$), 1,14 (s, 9H); МС (ESI): 547 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Етап В - Метил 5-[[1-(2-аміно-5-[[1-(2-хлорфеніл)етил]окси]-2-тіофенкарбоксилат



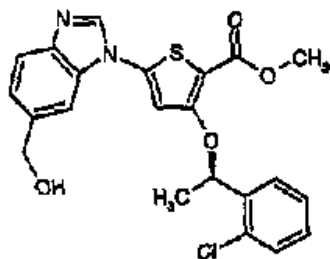
До реакційної склянки для гідрогенізації під високим тиском додавали метил 3-[[[(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил]окси]-5-[[[(2,2-диметилпропанол)окси]метил]-2-нітрофеніл]аміно]-2-тіофенкарбоксилат (6,5г, з другої партії, застосовуючи процедуру, аналогічну наступному: приклад 4, етап А, 11,9ммоль), 5% за масою платину на вуглецю (сульфидовану) (2,2г, 0,56ммоль) та EtOAc (95мл). Склянку очищали N₂ (газом) і вакуумували (3х), потім - H₂ (газом) і вакуумували (3х). Потім застосовували газ водень при 50 фунт/кв.дюйм протягом 3год. Реакційну суміш потім фільтрували через Целіт, промиваючи сухий залишок EtOAc та ДХМ. Фільтрат потім концентрували під вакуумом, що давало 5,46г (89%) заголовної сполуки як жовтої твердої речовини. МС (ESI): 517 [M+H]⁺.

Етап С - Метил 3-[[[(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил]окси]-5-(6-[[[(2,2-диметилпропанол)окси]метил]-1H-бензімідазол-1-іл]-2-тіофенкарбоксилат



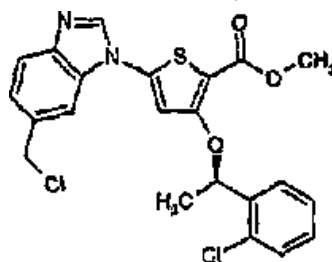
Перемішувану суміш метил 5-[[[(2-аміно-5-[[[(2,2-диметилпропанол)окси]метил]феніл]аміно]-3-[[[(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил]окси]-2-тіофенкарбоксилату (5,45г, 10,5ммоль), піридиніум п-толуолсульфонату (265 мг, 1,0ммоль) та триетилортоформіату (15мл) нагрівали до 40°C протягом 1год., потім охолоджували до кімнатної температури. Всю суміш заливали в силікагелевий картридж (25 г) та очищали хроматографією на силікагелі (120 г), елюючи 100% гексанами протягом 10хвил., потім з градієнтом 0-до-10% EtOAc/гексану, що давало 4,71г (85%) заголовної сполуки як жовтої твердої речовини. МС (ESI): 527 [M+H]⁺.

Етап D - Метил 3-[[[(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил]окси]-5-(6-[[[(гідроксиметил)-1H-бензімідазол-1-іл]-2-тіофенкарбоксилат



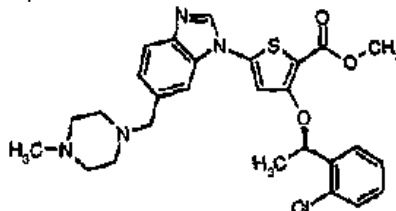
Заголовну сполуку отримували з метил 3-[[[(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил]окси]-5-(6-[[[(2,2-диметилпропанол)окси]метил]-1H-бензімідазол-1-іл]-2-тіофенкарбоксилату за процедурою, аналогічною наведеним: приклад 1, шлях 1, етап G. МС (ESI): 443 [M+H]⁺.

Етап Е - Метил 5-[6-(хлорметил)-1H-бензімідазол-1-іл]-3-[[[(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил]окси]-2-тіофенкарбоксилат



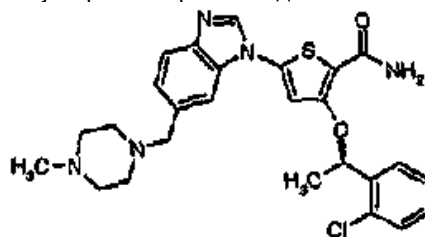
Заголовну сполуку отримували з метил 3-[[[(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил]окси]-5-(6-[[[(гідроксиметил)-1H-бензімідазол-1-іл]-2-тіофенкарбоксилату за процедурою, аналогічною наведеним: приклад 1, шлях 1, етап H. МС (ESI): 461 [M+H]⁺.

Етап F - Метил 3-[[[(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил]окси]-5-(6-[[[(4-метилпіперазин-1-іл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл]-2-тіофенкарбоксилат



До перемішуваної суміші метил 5-[6-(хлорметил)-1H-бензімідазол-1-іл]-3-[[[(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил]окси]-2-тіофенкарбоксилату (150 мг, 0,32ммоль) в діоксані (1,5мл) додавали N-метилпіперазин (55мкл, 0,49ммоль) та триетиламін (136мкл, 0,97ммоль). Реакцію потім нагрівали при 45°C протягом 18год., охолоджували до кімнатної температури та концентрували під вакуумом. Залишок розчиняли в EtOAc (125мл) та воді (50мл). Водний шар потім екстрагували EtOAc. Комбіновані органічні шари промивали розсолон, сушили над MgSO₄, концентрували під вакуумом та хроматографували на силікагелі (4 г), елюючи з градієнтом 0-до-10% MeOH/ДХМ з 1 % амоній гідроксидом, що давало 123 мг (72%) заголовної сполуки як блідо-жовтої твердої речовини. МС (ESI): 525 [M+H]⁺.

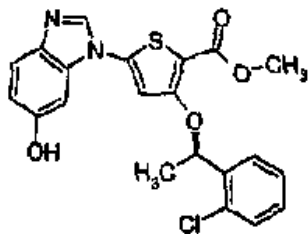
Етап G - 3-[[[(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил]окси]-5-(6-[[[(4-метилпіперазин-1-іл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл]-2-тіофенкарбоксамід



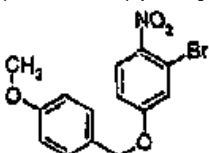
Заголовну сполуку отримували з метил 3-[[[(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил]окси]-5-(6-[[[(4-метилпіперазин-1-іл)метил]-1H-бензімідазол-1-іл]-2-тіофенкарбоксилату за процедурою, аналогічною наведеним: приклад 3, шлях 1, етап F. ¹H ЯМР (400МГц, DMSO-d₆): δ 8,52 (s, 1H), 7,83 (s,

1H), 7,69 (d, 2H, J=8,24Гц), 7,51-7,34 (m, 4H), 7,28 (d, 1H, J=8,24Гц), 7,16-7,11 (m, 2H), 5,98 (q, 1H, J=6,35Гц), 3,55 (s, 2H), 2,42-2,22 (m, 8H), 2,13 (s, 3H), 1,72 (d, 3H, J=6,23Гц); МС (ESI): 510 [M+H]⁺.

Приклад інтермедиату 4: Метил 3-((1R)-1-(2-хлорфеніл)етил)окси-5-(6-гідрокси-1H-бензімідазол-1-іл)-2-тіофенкарбоксилат

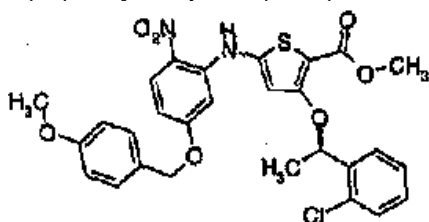


Етап А - 2-бromo-4-((4-(метилокси)феніл)метил)окси-1-нітробензол



2-бromo-4-флуор-1-нітробензол (20,0г, 90,9ммоль) та 4-метоксибензиловий спирт (22,7мл, 182ммоль) розчиняли в ДХМ (400мл) з перемішуванням. Додавали розчин 1N натрій гідроксиду (400мл), а потім - тетрабутиламоній гідросульфат (3,09г, 9,10ммоль). Реакцію перемішували протягом 8год. та заливали в ділильну ліжку. Шари відокремлювали та водний шар екстрагували один раз ДХМ та один раз диетилетером. Комбіновані органічні шари сушили над MgSO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі. Очищення флеш-хроматографією давало 28,01г (91%) заголовної сполуки. ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃): δ 8,03 (d, 1H, J=9,2Гц), 7,50 (d, 1H, J=2,6Гц), 7,39-7,34 (m, 2H), 7,17 (dd, 1H, J=2,7, 9,0Гц), 6,95-6,91 (m, 2H), 5,14 (s, 2H), 3,73 (s, 3H).

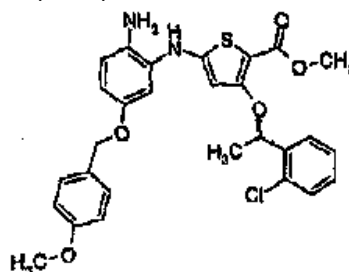
Етап В - Метил 3-((1H)-1-(2-хлорфеніл)етил)окси-5-((4-(метилокси)феніл)метил)окси-2-нітрофеніл)аміно-2-тіофенкарбоксилат



2-бromo-4-((4-(метилокси)феніл)метил)окси-1-нітробензол (20,19г, 59,7ммоль) та метил 5-аміно-3-((1R)-1-(2-хлорфеніл)етил)окси-2-тіофенкарбоксилат (18,60г, 59,7ммоль) розчиняли в 1,4-діоксані (500мл) з перемішуванням у колбі, оснащеною механічною мішалкою, дефлегматором та термометром. Розчин дегазували протягом 75хв. барботуванням азоту через перемішуваний розчин. Додавали 9,9-диметил-4,5-біс(дифенілфосфін)ксантен (1,52г, 2,63ммоль), цезій карбонат (97,26г, 299ммоль), та трис(добензиліденацетон) дипаладій(0) (1,09г, 1,19ммоль). Реакцію нагрівали до 60°C та перемі-

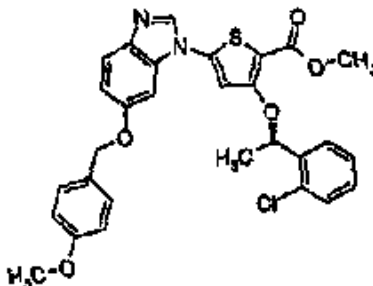
шували протягом 16год. Реакцію охолоджували до кімнатної температури та фільтрували через Целіт. Тверду речовину промивали 20% MeOH у ДХМ. Фільтрат концентрували, приблизно, на 200г силікагелю. Тверду речовину переносили на фритовану лійку та промивали 10% EtOAc у ДХМ. Фільтрат концентрували у вакуумі. Очищення флеш-хроматографією постачало 27,18г (80%) заголовної сполуки. ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃): δ 9,87 (s, 1H), 8,10 (d, 1H, J=9,5Гц), 7,63 (m, 1H), 7,39-7,29 (m, 4H), 7,23 (m, 1H), 6,96-6,90 (m, 2H), 6,80 (d, 1H, J=2,6Гц), 6,75 (s, 1H), 6,69 (dd, 1H, J=2,6, 9,3Гц), 5,75 (q, 1H, J=6,3Гц), 5,03 (AB, 2H, J_{AB}=13,2 Гц, J_{AB}=11,3Гц), 3,74 (s, 3H), 3,74 (s, 3H), 1,55 (d, 3H, J=6,4Гц).

Етап С - Метил 5-[[2-аміно-5-((4-(метилокси)феніл)метил)окси-феніл]аміно]-3-[[1(1H)-1-(2хлорфеніл)етил]окси]-2-тіофенкарбоксилат



Метил 3-((1R)-1-(2-хлорфеніл)етил)окси-5-[[4-((4-(метилокси)феніл)метил)окси]-2-нітрофеніл(аміно)-2-тіофенкарбоксилат (27,18г, 47,8ммоль) розчиняли в EtOAc (400мл) з перемішуванням. Додавали сульфидовану платину (5 мас.% на вуглець, 2,80 г), та реакцію поміщали під 1 атмосферу H₂, застосовуючи балон. Після 36год. додавали додаткову кількість каталізатору (2,80 г) та перемішування продовжували під 1 атмосферою водню. Після більше 16год. реакцію фільтрували через прокладку целіту, промиваючи EtOAc. Фільтрат концентрували, що давало заголовну сполуку, котру безпосередньо переносили в наступний етап. ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃): δ 8,66 (br s, 1H), 7,56 (dd, 1H, J=1,7, 7,8Гц), 7,41-7,09 (m, 5H), 6,93-6,88 (m, 2H), 6,71 (d, 1H, J=2,8Гц), 6,65 (d, 1H, J=8,6Гц), 6,57 (dd, 1H, J=2,7, 8,6Гц), 5,87 (s, 1H), 5,62 (q, 1H, J=6,4Гц), 4,82 (s, 2H), 4,46 (br s, 2H), 3,73 (s, 3H), 3,64 (s, 3H), 1,52 (d, 3H, J=6,2Гц).

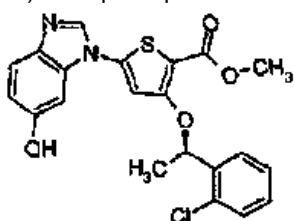
Етап D - Метил 3-((1R)-1-(2-хлорфеніл)етил)окси-5-[6-((4-(метилокси)феніл)метил)окси]-1H-бензімідазол-1-іл]-2-тіофенкарбоксилат



Метил 5-[[2-аміно-5-((4-(метилокси)феніл)метил)окси-феніл]аміно]-3-

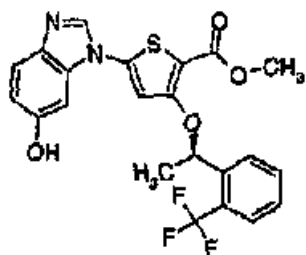
{{(1R)-1-(2-хлорфеніл)-етил}окси}-2-тіофенкарбоксилат розчиняли в триметилортоформаті (100мл) та диетилетері (100мл) з перемішуванням. Додавали піридиніум п-толуолсульфонат (0,601г, 2,39ммоль) в одиничній порції. Реакцію перемішували протягом 2,5год. та гасили додаванням триетиламіну (приблизно 3мл). Суміш концентрували та очищали флеш-хроматографією, що давало 25,45г (97% за 2 етапи) заголовної сполуки. ^1H ЯМР (400МГц, CDCl_3): δ 8,47 (s, 1H), 7,71 (dd, 1H, $J=1,6$, 8,2Гц), 7,63 (d, 1H, $J=9,0$ Гц), 7,43-7,08 (m, 7H), 7,00 (dd, 1H, $J=2,4$, 8,8Гц), 6,96-6,90 (m, 2H), 5,97 (q, 1H, $J=6,4$ Гц), 5,03 (AB, 2H, $J_{\text{Ab}}=17,1$ Гц, $J_{\text{ab}}=11,3$ Гц), 3,80 (s, 3H), 3,73 (s, 3H), 1,60 (d, 3H, $J=6,4$ Гц).

Етап Е - Метил 3-{{(1H)-1-(2-хлорфеніл)етил}окси}-5-(6-гідрокси-1-бензімідазол-1-іл)-2-тіофенкарбоксилат



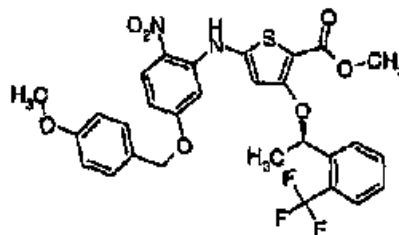
Метил 3-{{(1H)-1-(2-хлорфеніл)етил}окси}-5-[6-{{(4-(метилокси)феніл)-метил}окси}-1H-бензімідазол-1-іл]-2-тіофенкарбоксилат (25,45г, 46,4ммоль) розчиняли в ДХМ (120мл) та охолоджували до 0°C з перемішуванням. Краплями додавали трифлуоретову кислоту (40,0мл, 519ммоль) через лійку для додавання. Реакцію перемішували протягом 1год. та краплями додавали натрій гідроксид (20,0г, 500ммоль) у воді (120мл) через лійку для додавання. Потім насиченим розчином NaHCO_3 регулювали рН суміші до нейтрального. Реакцію заливали в ділильну лійку та шари відокремлювали. Водний шар промивали EtOAc . Комбіновані органічні шари сушили над MgSO_4 , фільтрували та концентрували у вакуумі. Очищення флеш-хроматографією давало 14,86г (75%) заголовної сполуки. ^1H ЯМР (400МГц, CDCl_3): δ 9,62 (s, 1H), 8,45 (s, 1H), 7,74 (dd, 1H, $J=1,7$, 7,7Гц), 7,53 (d, 1H, $J=8,8$ Гц), 7,46-7,38 (m, 3H), 7,32 (m, 1H), 7,08 (d, 1H, $J=2,2$ Гц), 6,79 (dd, 1H, $J=2,2$, 8,6Гц), 5,94 (q, 1H, $J=6,2$ Гц), 3,79 (s, 3H), 1,60 (d, 3H, $J=6,2$ Гц).

Приклад інтермедіату 5: Метил 5-(6-гідрокси-1H-бензімідазол-1-іл)-3-{{(1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил}окси}-2-тіофенкарбоксилат



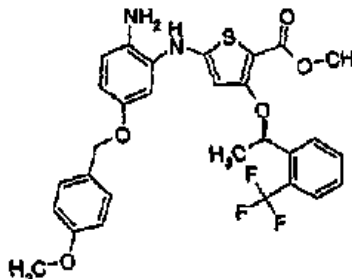
Етап А - Метил 5-[[5-[[4-(метилокси)феніл]метил]окси]-2-нітрофеніл]аміно]-3-{{(1R)-1-[2-

(трифлуорметил)феніл]етил}окси)-2-тіофенкарбоксилат



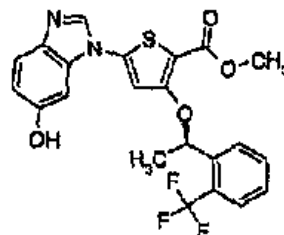
Заголовну сполуку отримували з метил 5-аміно-3-{{(1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил}окси}-2-тіофенкарбоксилату та 2-бromo-4-[[4-(метилокси)феніл]метил]окси]-1-нітробензолу процедурою такою, як у прикладі інтермедіату 4, етап В. МС (ESI): 603 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Етап В - Метил 5-[[2-аміно-5-[[4-(метилокси)феніл]метил]окси]феніл]аміно]-3-{{(1H)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил}окси}-2-тіофенкарбоксилат



Заголовну сполуку отримували з метил 5-[[5-[[4-(метилокси)феніл]метил]окси]-2-нітрофеніл]аміно]-3-{{(1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил}окси}-2-тіофенкарбоксилату процедурою такою, як у прикладі інтермедіату 4, етап С. МС (ESI): 573 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

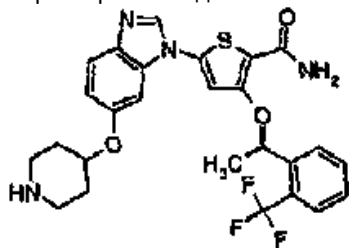
Етап С - Метил 5-(6-гідрокси-1H-бензімідазол-1-іл)-3-{{(1H)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил}окси}-2-тіофенкарбоксилат



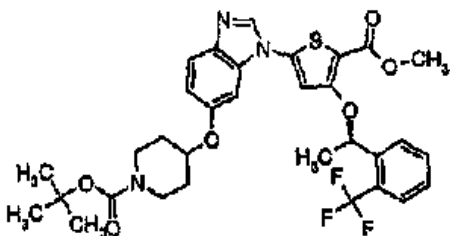
Метил 5-[[2-аміно-5-[[4-(метилокси)феніл]метил]окси]феніл]аміно]-3-{{(1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил}окси}-2-тіофенкарбоксилат (11г, 19,19ммоль) розчиняли в 100мл триметилортоформаті з перемішуванням. Піридиніум п-толуолсульфонат (0,502г, 1,91ммоль) додавали в одиничній порції. Реакцію перемішували протягом 2,5год. Суміш концентрували, та сирий метил 5-[6-[[4-(метилокси)феніл]метил]окси]-1H-бензімідазол-1-іл]-3-{{(1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил}окси}-2-тіофенкарбоксилат розчиняли в хлороформі (75мл) та охолоджували до 0°C з перемішуванням. Додавали трифлуоретову кислоту (50,0мл,

649ммоль), реакцію перемішували протягом 1 год. та дозволяли досягнути кімнатної температури. Суміш концентрували в той час, коли охолоджували, для видалення більшості трифлуороцтової кислоти. Суміш розчиняли в хлороформі (200мл). Реакцію заливали в ділильну лійку й шари відокремлювали. Потім насиченим розчином NaHCO_3 регулювали рН суміші до нейтрального. Водний шар промивали хлороформом. Комбіновані органічні шари сушили над MgSO_4 , фільтрували та концентрували у вакуумі. Очищення флеш-хроматографією давало 8,16г (92% за 2 етапи) заголовної сполуки. ^1H ЯМР (400МГц, CDCl_3): δ 7,88 (d, 1H, $J=7,87\text{Гц}$), 7,83 (s, 1H), 7,66-7,55 (m, 3H), 7,40 (t, 1H, $J=7,7\text{Гц}$), 6,92 (d, 1H, $J=2,2\text{Гц}$), 6,85 (dd, 1H, $J=2,3$, 8,7Гц), 5,78 (q, 1H, $J=6,23\text{Гц}$), 5,47 (s, 1H), 3,91 (s, 3H), 1,75 (d, 3H, $y=6,23\text{Гц}$); МС (ESI): 463 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Приклад 5: 5-[6-(4-Піперидинілокси)-1H-бензімідазол-1-іл]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксамід



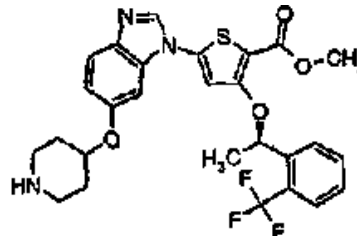
Етап А – 1,1-Диметилетил 4-((1-[5-[(метилокси)кабоніл]-4-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тієніл]-1H-бензімідазол-6-іл)окси)-1-піперидинкарбоксилат



Метил 5-(6-гідрокси-1H-бензімідазол-1-іл)-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]-етил)окси)-2-тіофенкарбоксилат (0,478г, 1,03ммоль), цезій карбонат (0,470г, 1,44ммоль), та 4-(толуол-4-сульфонілокси)-піперидин-1-карбонової кислоти трет-бутил-естер (0,439г, 1,24ммоль) комбінували в 10мл N,N-диметилформаміду та нагрівали до 60°C з перемішуванням. Реакцію нагрівали протягом 36год. та охолоджували до кімнатної температури. Суміш заливали в EtOAc та воду й шари відокремлювали. Органічний шар промивали розсоллом, та комбіновані водні шари екстрагували EtOAc. Комбіновані органічні шари сушили над MgSO_4 , фільтрували та концентрували у вакуумі. Очищення флеш-хроматографією давало 0,482г (72%) заголовної сполуки. ^1H ЯМР (400МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,43 (s, 1H), 7,95 (dd, $J=7,7\text{Гц}$, 1H), 7,78-7,66 (m, 2H), 7,63 (d, $J=8,8\text{Гц}$, 1H), 7,50 (m, 1H), 7,29 (s, 1H), 7,09 (d, $J=2,2\text{Гц}$, 1H), 7,01 (dd, $J=8,8$, 2,2 Гц, 1H), 5,97 (q, $J=6,2\text{Гц}$, 1H), 4,59 (m, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,65-3,56 (m, 2H), 3,25-3,15 (m,

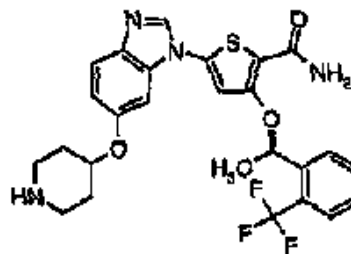
2H), 1,91-1,82 (m, 2H), 1,63 (d, $J=6,2\text{Гц}$, 3H), 1,59-1,49 (m, 2H), 1,38 (s, 9H). МС m/z 646 (M+1).

Етап В – Метил 5-[6-(4-піперидинілокси)-1H-бензімідазол-1-іл]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксилат



1,1-Диметилетил 4-((1-[5-[(метилокси)кабоніл]-4-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тієніл]-1H-бензімідазол-6-іл)окси)-1-піперидинкарбоксилат (1,84г, з другої партії, застосовуючи процедуру, аналогічну наступному: приклад 5, етап А, 2,85ммоль) розчиняли в 30мл ДХМ з перемішуванням та охолоджували до 0°C . Краплями додавали трифлуоцтову кислоту (10,0мл, 130ммоль) через лійку для додавання. Реакцію перемішували протягом 1 години, та краплями додавали 2 N розчин натрій гідроксиду (60мл) через лійку для додавання. Насичений водний розчин NaHCO_3 застосовували для регулювання рН до основного. Суміш заливали в ділильну лійку та шари відокремлювали. Водний шар промивали один раз ДХМ та один раз диетилетером. Комбіновані органічні шари сушили над MgSO_4 , фільтрували та концентрували у вакуумі. Очищення флеш-хроматографією постачало 1,37г (88%) заголовної сполуки. ^1H ЯМР (400МГц, $\text{DMCO}-d_6$): δ 8,42 (s, 1H), 7,95 (d, $J=7,9\text{Гц}$, 1H), 7,78-7,67 (m, 2H), 7,61 (d, $J=8,6\text{Гц}$, 1H), 7,61 (m, 1H), 7,30 (s, 1H), 7,05 (d, $J=2,2\text{Гц}$, 1H), 6,97 (dd, $J=8,8$, 2,2 Гц, 1H), 5,96 (q, $J=6,1\text{Гц}$, 1H), 4,41 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 2,97-2,88 (m, 2H), 2,59-2,49 (m, 2H), 1,92-1,83 (m, 2H), 1,63 (d, $J=6,1\text{Гц}$, 3H), 1,51-1,38 (m, 2H). МС m/z 546 (M+1).

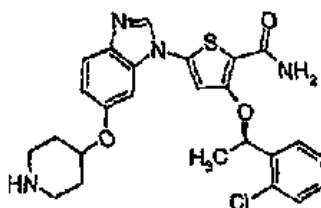
Етап С – 5-[6-(4-Піперидинілокси)-1H-бензімідазол-1-іл]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксамід



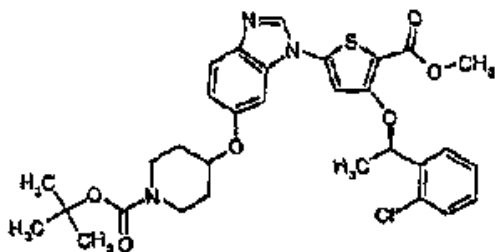
Метил 5-[6-(4-піперидинілокси)-1H-бензімідазол-1-іл]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксилат (0,154г, 0,282ммоль) розчиняли в 7 N аміаку в MeOH (12,0мл, 84,0ммоль) в герметизованій склянці та нагрівали до 80°C протягом 2 діб. Реакцію охолоджували до кімнатної температури та концентрували у вакуумі. Очищення флеш-хроматографією давало 0,129г (86%)

заголовної сполуки. ^1H ЯМР (400МГц, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,34 (s, 1H), 7,91 (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,81 (br s, 1H), 7,78-7,70 (m, 2H), 7,61 (d, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,53 (m, 1H), 7,12 (br s, 1H), 7,03 (s, 1H), 7,00-6,93 (m, 2H), 5,94 (q, $J=6,2$ Гц, 1H), 4,44 (m, 1H), 3,03-2,94 (m, 2H), 2,70-2,61 (m, 2H), 1,96-1,86 (m, 2H), 1,72 (d, $J=6,2$ Гц, 3H), 1,59-1,46 (m, 2H). МС m/z 531 ($M+1$).

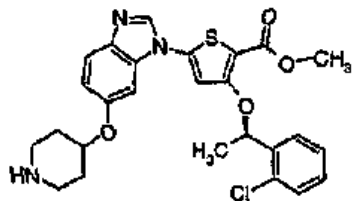
Приклад 6: 3-((1R)-1-(2-Хлорфеніл)етил)окси-5-[6-(4-піперидинілокси)-1H-бензімідазол-1-іл]-2-тіофенкарбоксамід



Етап А – 1,1-Диметилетил 4-[(1-{4-[(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил]окси}-5-[(метилокси)карбоніл]-2-тієніл}-1-бензімідазол-6-іл)окси]-1-піперидинкарбоксилат



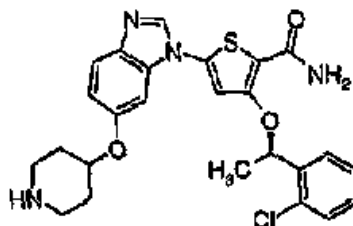
Метил 3-[(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил]окси-5-(6-гідрокси-1H-бензімідазол-1-іл)-2-тіофенкарбоксилат (2,00г, 4,66ммоль), трифеніл-фосфін (4,89г, 18,6ммоль), та т-бутил 4-гідрокси-1-піперидинкарбоксилат (1,88г, 9,34ммоль) розчиняли в ДХМ (50мл) з перемішуванням та охолоджували до 10°C . краплями додавали діізопропіл азодикарбоксилат (1,84мл, 9,35ммоль) через шприц. Реакцію перемішували протягом 5хв. та дозволяли нагрітися до кімнатної температури. Реакцію перемішували протягом 4год. та адсорбували на силікагелі. Очищення флеш-хроматографією давало заголовну сполуку разом з малою кількістю домішок. ^1H ЯМР (400МГц, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,47(s, 1H), 7,70 (dd, 1H, $J=1,6$, 7,7Гц), 7,64 (d, 1H, $J=8,8$ Гц), 7,44-7,37 (m, 2H), 7,34 (s, 1H), 7,31 (m, 1H), 7,15 (d, 1H, $J=2,4$ Гц), 7,01 (dd, 1H, $J=2,2$, 8,8Гц), 5,97 (q, 1H, $J=6,2$ Гц), 4,59 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,65-3,56 (m, 2H), 3,27-3,14 (m, 2H), 1,92-1,81 (m, 2H), 1,60 (d, 3H, $J=6,2$ Гц), 1,60-1,47 (m, 2H), 1,38 (s, 9H); МС (ESI): 612 [$M+H$] $^+$.



Етап В – Метил 3-[(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил]окси-5-[6-(4-піперидинілокси)-1H-бензімідазол-1-іл]-2-тіофенкарбоксилат

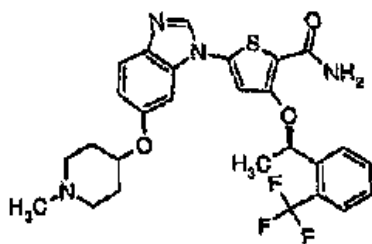
1,1-Диметилетил 4-[(1-{4-[(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил]окси}-5-[(метилокси)карбоніл]-2-тієніл}-1H-бензімідазол-6-іл)окси]-1-піперидинкарбоксилат розчиняли в ДХМ (60мл) та охолоджували до 0°C . Через лійку для додавання краплями додавали трифлуоретову кислоту (15,0мл, 195ммоль). Реакцію перемішували протягом 1,5год., та через лійку для додавання краплями додавали 2 N розчин натрій гідроксиду (88мл). Насичений водний NaHCO_3 розчин застосовували для регулювання рН, приблизно, до 8. Суміш заливали в ділительну лійку та шари відокремлювали. Водний шар промивали ДХМ (3х) та EtOAc (1х). Комбіновані органічні шари сушили над MgSO_4 , фільтрували та концентрували у вакуумі. Очищення флеш-хроматографією постачало 1,95г (82% за 2 етапи) заголовної сполуки. ^1H ЯМР (400МГц, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,46 (s, 1H), 7,71 (dd, 1H, $J=1,7$, 7,7Гц), 7,62 (d, 1H, $J=8,8$ Гц), 7,46-7,38 (m, 2H), 7,35 (s, 1H), 7,32 (m, 1H), 7,09 (d, 1H, $J=2,2$ Гц), 6,97 (dd, 1H, $J=2,2$, 8,8Гц), 5,97 (q, 1H, $J=6,2$ Гц), 4,42 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 2,96-2,88 (m, 2H), 2,58-2,49 (m, 2H), 1,93-1,84 (m, 2H), 1,60 (d, 3H, $J=6,2$ Гц), 1,51-1,39 (m, 2H); МС (ESI): 512 [$M+1$] $^+$.

Етап С – 3-[(1R)-1-(2-Хлорфеніл)етил]окси-5-[6-(4-піперидинілокси)-1H-бензімідазол-1-іл]-2-тіофенкарбоксамід

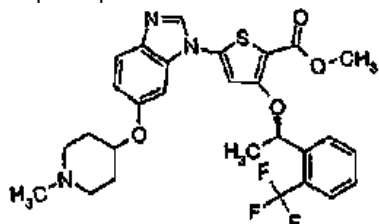


Метил 3-[(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил]окси-5-[6-(4-піперидинілокси)-1H-бензімідазол-1-іл]-2-тіофенкарбоксилат (0,150г, 0,293ммоль) розчиняли в 7 N аміаку в MeOH (12,0мл, 84,0ммоль) в герметизованій скляній та нагрівали до 80°C протягом 48год. Розчин концентрували повністю та перерозчиняли у свіжому 7 N аміаку в MeOH (12,0мл, 84,0ммоль) та нагрівали до 110°C протягом 72год. Реакцію охолоджували до кімнатної температури та концентрували у вакуумі. Очищення флеш-хроматографією давало 0,126г (87%) заголовної сполуки. ^1H ЯМР (400МГц, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,38 (s, 1H), 7,79 (brs, 1H), 7,66 (dd, 1H, $J=1,6$, 7,7 Гц, 1H), 7,61 (d, 1H, $J=8,8$ Гц), 7,45 (dd, 1H, $J=1,3$, 7,8Гц), 7,40 (m, 1H), 7,84 (m, 1H), 7,11 (s, 1H), 7,11 (br s, 1H), 7,01 (d, 1H, $J=2,2$ Гц), 6,96 (dd, 1H, $J=2,3$, 8,7Гц), 5,98 (q, 1H, $J=6,2$ Гц), 4,41 (m, 1H), 2,98-2,89 (m, 2H), 2,62-2,53 (m, 2H), 1,94-1,84 (m, 2H), 1,70 (d, 3H, $J=6,2$ Гц), 1,54-1,40 (m, 2H); МС (ESI): 497 [$M+H$] $^+$.

Приклад 7: 5-[6-[(1-Метил-4-піперидиніл)окси]-1H-бензімідазол-1-іл]-3-[(1R)-1-(2-тіофенкарбоксамід)]етил]окси-2-

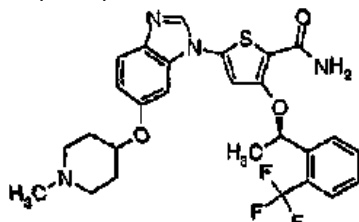


Етап А - Метил 5-{6-[(1-метил-4-піперидиніл)окси]-1H-бензімідазол-1-іл}-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксилат



Метил 5-{6-[(1-метил-4-піперидинілокси)-1H-бензімідазол-1-іл]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксилат (0,200г, 0,367ммоль) розчиняли в ДХМ (4мл) та MeOH (2мл). Оцтову кислоту (0,025мл, 0,44ммоль) та формальдегід (0,055мл, 37% у воді, 0,74ммоль) додавали через шприц. Натрій триацетоксиборгідрид (0,117г, 0,552ммоль) додавали в одиничній порції. Реакцію перемішували протягом 1год. та гасили насиченим розчином NaHCO_3 . Суміш заливали в ДХМ та напівнасичений водний NaHCO_3 . Шари відокремлювали, та водний шар промивали ДХМ (3х) і EtOAc (1х). Комбіновані органічні шари сушили над MgSO_4 , фільтрували та концентрували у вакуумі. Очищення флеш-хроматографією давало 0,150г (73%) заголовної сполуки. ^1H ЯМР (400МГц, DMSO-d_6): δ 8,43 (s, 1H), 7,96 (d, $J=11$ Гц, 1H), 7,78-7,68 (m, 2H), 7,62 (d, $J=9,0$ Гц, 1H), 7,51 (m, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,06 (br s, 1H), 6,98 (m, 1H), 5,97 (q, $J=6,0$ Гц, 1H), 4,41 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,26 (s, 3H), 2,52-2,43 (m, 2H), 2,27-2,11 (m, 2H), 1,98-1,85 (m, 2H), 1,73-1,60 (m, 2H), 1,62 (d, $J=6,0$ Гц, 3H). МС (ESI): 560 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

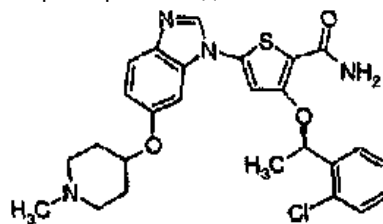
Етап В - 5-{6-[(1-Метил-4-піперидиніл)окси]-1H-бензімідазол-1-іл}-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксамід



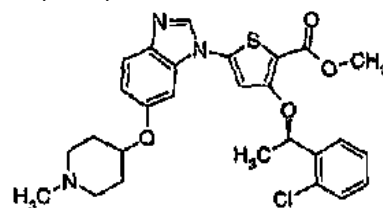
Метил 5-{6-[(1-метил-4-піперидинілокси)-1H-бензімідазол-1-іл]-3-(((1R)-1-[2-(трифлуорметил)феніл]етил)окси)-2-тіофенкарбоксилат (0,148г, 0,264ммоль) розчиняли в 7 N аміаку в MeOH (12,0мл, 84,0ммоль) в герметизованій скляній та нагрівали до 80°C протягом 24 годин. Реакцію охолоджували до кімнатної

температури та концентрували у вакуумі. Очищення флеш-хроматографією давало 0,138г (96%) заголовної сполуки. ^1H ЯМР (400МГц, DMSO-d_6): δ 8,35 (s, 1H), 7,92 (d, $J=7,7$ Гц, 1H), 7,82 (br s, 1H), 7,80-7,71 (m, 2H), 7,64-7,51 (m, 2H), 7,12 (brs, 1H), 7,06 (s, 1H), 6,99-6,94 (m, 2H), 5,95 (q, $J=6,2$ Гц, 1H), 4,36 (m, 1H), 2,64-2,53 (m, 2H), 2,23-2,11 (m, 2H), 2,17 (s, 3H), 1,94-1,84 (m, 2H), 1,73 (d, $J=6,2$ Гц, 3H), 1,71-1,57 (m, 2H). МС (ESI): 545 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Приклад 8: 3-(((1R)-1-(2-(2-Хлорфеніл)етил)окси)-5-{6-[(1-метил-4-піперидиніл)окси]-1H-бензімідазол-1-іл}-2-тіофенкарбоксамід

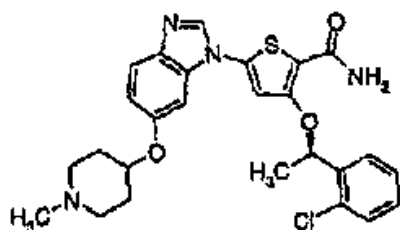


Етап А - Метил 3-(((1R)-1-(2-хлорфеніл)етил)окси)-5-{6-[(1-метил-4-піперидинілокси)-1H-бензімідазол-1-іл]-2-тіофенкарбоксилат



Метил 3-(((1R)-1-(2-хлорфеніл)етил)окси)-5-{6-[(1-метил-4-піперидинілокси)-1H-бензімідазол-1-іл]-2-тіофенкарбоксилат (0,260г, 0,508ммоль) розчиняли в ДХМ (4мл) та MeOH (2мл). через шприц додавали оцтову кислоту (0,035мл, 0,61ммоль) та формальдегід (0,076мл, 37% у воді, 1,0ммоль). Натрій триацетоксиборгідрид (0,161г, 0,760ммоль) додавали в одиничній порції. Реакцію перемішували протягом 2год. та заливали в ДХМ та напівнасичений водний NaHCO_3 . Шари відокремлювали, та водний шар промивали ДХМ та EtOAc. Комбіновані органічні шари сушили над MgSO_4 , фільтрували та концентрували у вакуумі. Очищення флеш-хроматографією давало 0,215г (80%) заголовної сполуки. ^1H ЯМР (400МГц, DMSO-d_6): δ 8,48 (s, 1H), 7,73 (dd, 1H, $J=1,8, 7,7$ Гц), 7,63 (d, 1H, $J=8,8$ Гц), 7,47-7,40 (m, 2H), 7,38 (s, 1H), 7,34 (m, 1H), 7,12 (d, 1H, $J=2,2$ Гц), 6,99 (dd, 1H, $J=2,2, 8,8$ Гц), 5,98 (q, 1H, $J=6,2$ Гц), 4,41 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 2,65-2,54 (m, 2H), 2,24-2,13 (m, 2H), 2,17 (s, 3H), 1,97-1,87 (m, 2H), 1,72-1,61 (m, 2H), 1,62 (d, 3H, $J=6,2$ Гц); МС (ESI): 526 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Етап В - 3-(((1R)-1-(2-Хлорфеніл)етил)окси)-5-{6-[(1-метил-4-піперидинілокси)-1H-бензімідазол-1-іл]-2-тіофенкарбоксамід



Метил 3-[[[(1R)-1-(2-хлорфеніл)етил]окси]-5-{6-[[[(1-метил-4-піперидиніл)окси]-1-бензімідазол-6-іл]-2-тіофенкарбоксилат (0,214г, 0,407ммоль) розчиняли в 7 N аміаку в MeOH (12,0мл, 84,0ммоль) в герметизованій склянці та нагрівали до 80°C протягом 2,5 доби. Реакцію охолоджували до кімнатної температури та концентрували у вакуумі. Очищення флеш-хроматографією давало 0,208г (100%) заголовної сполуки. ¹H ЯМР (400МГц, DMSO-d₆): δ 8,39 (s, 1H), 7,80 (br s, 1H), 7,67 (dd, 1H, J=1,5, 7,6Гц), 7,62 (d, 1H, J=8,6Гц), 7,45 (m, 1H), 7,41 (m, 1H), 7,34 (m, 1H), 7,13 (s, 1H), 7,11 (br s, 1H), 7,02 (d, 1H, J=2,0Гц), 6,97 (dd, 1H, J=2,2, 8,8Гц), 5,99 (q, 1H, J=6,2Гц), 4,37 (m, 1H), 2,63-2,53 (m, 2H), 2,22-2,14 (m, 2H), 2,17 (s, 3H), 1,95-1,86 (m, 2H), 1,71 (d, 3H, J=6,2Гц), 1,70-1,59 (m, 2H); MS (ESI): 511 [M+H]⁺.

Порівняльні приклади

Порівняльні приклади №121, 126, 127, 136 та 143 можна отримувати, застосовуючи способи, відомі в рівні техніки, охоплюючи ті, що описані в публікаціях PCT No.WO2004/014899 до SmithKline Beecham Corp.

Номер	Структур
121	
126	
127	

136	
143	

Біологічні приклади

I. Аналіз інгібування PLK1

А. Отримання домену 6х N-кінцевий His-мічений PLK-кінази домену 6х N-кінцевий His-мічений PLK-кінази (амінокислоти 21-346 подовжено MKKGHHHHHH) SEQ ID: No.1, отримували з інфікованих бакуловірусом клітин Т. пі під контролем поліедрин-промотора. Усі процедури проводили при 4°C. Клітини лізували в 50мМ ГЕПЕС, 200мМ NaCl, 50мМ імідазолі, 5% гліцерині; pH 7,5. Гомогенат центрифугували при 14K обертів/хвилину в ротаційному приладі SLA-500 протягом 1 год., і надосад фільтрували через фільтр 1,2 мікронів. Надосад завантажували на колонку з нікель-хелатованою сефарозою (Amersham Pharmacia) та промивали буфером лізису. Білок елюювали, застосовуючи етапи 0%, 30% та 100% буферу В, де буфер В - 50мМ ГЕПЕС, 200мМ NaCl, 300ммоль імідазол, 5% гліцерин; pH 7,5. Фракції, що містять PLK визначали SDS-PAGE. Фракції, що містять PLK розбавляли п'ятикратно 50мМ ГЕПЕС, 1мМ DTT, 5% гліцерином; pH 7,5, потім завантажували на колонку SP Sepharose (Amersham Pharmacia). Після промивання колонки 50мМ ГЕПЕС, 1мМ DTT, 5% гліцерином; pH 7,5, PLK елюювали 50мМ ГЕПЕС, 1мМ DTT, 500мМ NaCl; 5% гліцерином; pH 7,5. PLK концентрували, застосовуючи мембрани з обмеженням молекулярної маси 10 кДа, потім завантажували на колонку Superdex 200 (Amersham Pharmacia) з гел'фільтрацією, збалансованою в 25мМ ГЕПЕС, 1мМ DTT, 500мМ NaCl, 5% гліцерині; pH 7,5. Фракції, що містять PLK визначали SDS-PAGE. PLK поєднували, аліквотували та зберігали при -80°C. Якість зразків контролювали, застосовуючи мас-спектрометрію, N-кінцеве секвенсування та амінокислотний аналіз.

В. Інгібітори ферментної +/- активності визначали наступним чином:

Усі виміри отримували в умовах, коли генерований сигнал лінійно зростає залежно від часу та ферменту. Сполуки тесту додавали до білих 384-коміркових планшетів для аналізу (0,1мкл для 10мкл-аналізів та для деяких 20мкл-аналізів, 1мкл

для деяких 20мкл-аналізів) при змінних відомих концентраціях в 100% ДМСО. ДМСО (кінцеві 1-5%, за обставинами) та EDTA (65ммоль у реакції) застосовували як контролю. Реакційну суміш отримували при 22°C наступним чином:

25мМ ГЕПЕС, pH 7,2

15мМ MgCl₂

1мкМ АТФ

0,05 мкКи/комірка ³³P-γ АТФ (10Ки/ммоль)

1ммоль субстрату пептиду (Biotin-Ahx-SFNDFLDFD) SEQ ID:No.2.

0,15мг/мл BSA

1мМ DTT

1нМ домен кінази PLK1 (додавали останнім)

Реакційну суміш (10 або 20мкл) швидко додавали до кожної комірки, а потім одразу через автоматизований маніпулятор для рідини додавали фермент та інкубували 1-1,5год. при 22°C. Ензиматичні реакції по 20мкл зупиняли сумішшю для зупинки по 50мкл на комірку (50ммоль EDTA, 4,0мг/мл гранул стрептавідину SPA в Standard Dulbecco's PBS (без Mg²⁺ та Ca²⁺), 50ммоль АТФ). Реакції по 10мкл зупиняли сумішшю для зупинки по 10мкл на комірку (50ммоль EDTA, 3,0мг/мл стрептавідин-сполучні SPA-подібні гранули ("LeadSeeker") в Standard Dulbecco's PBS (без Mg²⁺ та Ca²⁺), 50ммоль АТФ). Планшети герметизували прозорими пластиковими печатками, центрифугували при 500 x g протягом 1хвил. або відстоювали протягом ночі, та підраховували в Packard TopCount протягом 30 секунд/комірку (звичайний SPA) або відображали, застосовуючи Viewlux imager (LeadSeeker SPA). Вищезгаданий сигнал фону (EDTA-контролі) перетворювали в процент інгібування стосовно того, що отримували в контрольних (лише ДМСО) комірках.

С. Результати

Дані надані нижче в таблиці 1. У таблиці 1, +=pIK₅₀ <6; ++=pIK₅₀ 6-8; +++=pIK₅₀ >8.

II. Аналіз росту інгібування метиленовим синім --інгібування проліферації клітини інгібіторами PLK1

Звичайно лінії різного походження пухлинних клітин, що експоненціально зростають, культивовані при 37°C в 5% CO₂ інкубаторі у відповідному середовищі, що містить 10% коров'ячу ембріональну сироватку, висівали при низькій щільності (менше 2000 клітин/комірку) в 96-комірковій планшеті. Через двадцять чотири години після висівання клітини обробляли різними концентраціями сполук тесту в діапазоні 10ммоль - 0,04 нмоль. Декілька комірок залишали необробленими як контроль. Через сімдесят дві години після обробки число клітин визначали, застосовуючи 100мкл на комірку метиленового синього (Sigma M9140) (0,5% в 50:50 етанолі:воді). Фарбник інкубували при кімнатній температурі протягом 30 хвилин перед тим, як промивали планшети, і фарбник розчиняли в 1% N-лауроїлсаркозині, натрієвій солі, (Sigma L5125, в PBS) (подаліші подробиці аналізу метиленового синього описано нижче). Планшети зчитували на мікропланшетному зчитувачі, визначаючи OD при 620 нм.

Процент інгібування клітинного росту виражали як процент проліферації стосовно 100% пролі-

ферації (контроль). Концентрацію сполуки тесту, що інгібувала 50% клітинного росту (KI₅₀), визначали апроксимацією 4 параметрів даних, застосовуючи XLfit (величину контролю без клітин віднімали з усіх зразків для фону). Дані показано нижче в таблиці 1, та вони представляють компіляцію декількох різних експериментів, кожний робили, застосовуючи загальні параметри, окреслені вище, хоч у деяких випадках можна застосовувати інші версії.

В одному аналізі звичайні клітинні лінії пухлин фібробластів крайньої плоти людини (HFF), ободової кишки людини (HCT116, RKO), легенів (H460, A549) та грудних залоз (MCF7) культивували при 37°C у вологому інкубаторі з 5% CO₂, 95% повітря в DMEM із високою глюкозою (Life Technologies), що містить 10% коров'ячої ембріональної сироватки (FBS). Клітини збирали, застосовуючи трипсин/EDTA, підраховували, застосовуючи підрахункову камеру, та наносили в 100мкл культурного середовища на комірку при подальшому ущільненні в 96-комірковий планшет для культури тканини (Falcon 3075): HFF 5,000 клітин/комірку, HCT116 3,000 клітин/комірку, RKO 2,500 клітин/комірку, H460 2,500 клітин/комірку, A549 5,000 клітин/комірку, MCF7 4,000 клітин/комірку. Наступної доби сполуки розбавляли DMEM із низькою глюкозою, що містить 100мг/мл гентаміцину, при подвійній потрібній кінцевій концентрації, з 10мМ вихідних розчинів у ДМСО. Тепер 100мкл/комірку цих розріджувачів додавали до 100мкл середовища в планшеті для аналізу. Середовище, що містить 0,6% ДМСС, додавали до контрольних комірок. Кінцеві концентрації ДМСО в усіх комірках були 0,3%. Клітини інкубували при 37°C, 5% CO₂ протягом 72год. Середовище видаляли аспірацією. Клітинну біомасу оцінювали фарбуванням клітин 80мкл метиленового синього на комірку (Sigma M9140, 0,5% в 50:50 етанолі:води) та інкубуванням при кімнатній температурі протягом 30-60хвил. Барвник видаляли аспірацією та планшети промивали зануренням у воду, потім сушили на повітрі. Для вивільнення барвника із клітин додавали 100мкл розчину для сольобілізації (1% N-лаурилсаркозин, натрієва сіль, Sigma L5125, у PBS), та планшети обережно струшували, приблизно, протягом 30хвил. Оптичну щільність при 620 нм визначали на мікропланшетному зчитувачі. Процент інгібування клітинного росту розраховували стосовно наповнювача, яким обробляли контрольні комірки. Концентрацію сполуки, що інгібує 50% клітинного росту (KI₅₀), інтерполювали, застосовуючи нелінійну регресію (Levenberg-Marquardt) та рівняння, $y = V_{max} * (1 - (x/(K+x))) + Y2$, де "K" дорівнювало KI₅₀.

Дані наведено нижче в таблиці 1. У Таблиці 1: +=KI₅₀ > 1ммоль; ++=KI₅₀ 0,1-1ммоль; +++=KI₅₀ < 0,1ммоль.

III. Визначення зв'язування білку до білків плазми людини, застосовуючи рівноважний діаліз

96-Комірковий планшет (діаліз із високою пропускною здатністю): розчини, що постачали сполуки, проколювали в плазму людини при цільовій концентрації 2000 нг/мл Суміш обережно переві-

тали декілька разів для досягнення гомогенності та збирали потрібні 50мкл аліквоти для перевірки вихідних концентрацій. Наступний комплект планшету для діалізу (мембранні плівки для діалізу з високою пропускною здатністю, молекулярна маса обмежувалася 12,000 - 14,000 дальтонами), шприцьовану плазму (150мкл) поміщали в донорний відділ комірки, а фосфатний буфер на фізіологічному розчині рН 7,4 (150мкл) - у приймальний відділ. Вісім комірок установлювали для сполуки та типу плазми. Планшет поміщали в 37°C інкубатор на струшувач планшета. Після 6год. інкубаційного періоду планшет видаляли. Аналізували по одній аліквоті по 50мкл із кожного донорного та отримувального відділу (на комірку). Аналіз зразку проводили способами РХ/МС/МС (результати надано співвідношенням: площа піку для ліків / площа піку для внутрішнього стандарту). Аналіз зв'язування білку також можна робити, застосовуючи діаліз клітин замість діалізу з високою пропускною здатністю

ністю в 96-коміркових планшетах. Дані наведено нижче в таблиці 1. У таблиці 1 % зв'язування білку: +=>98%; ++=95-98%; +++=<95%.

IV. Аналіз розчинності з високою пропускною здатністю

Для кожної сполуки отримували два зразки. Один (стандартний зразок) містить сполуку при постійній концентрації 20мкмоль у водно/органічній суміші розчинників. Інший (зразок тесту) містить сполуку при максимальній концентрації 200мкмоль при рН 7,4, у 0,05М фосфатному буфері, і це струшували протягом 24год. Зразок тесту фільтрували через фільтр 0,45 мікронів та потім крутили протягом 10хвил. для видалення будь-якої нерозчинної твердої речовини. Ці зразки аналізували за допомогою ВЕРХ. Площі піків застосовано для розрахування розчинності. Дані наведено нижче в таблиці 1. У таблиці 1 розчинність: +=<30мкмоль; ++=30-100мкмоль; +++=>100мкмоль.

Таблиця 1

Приклад #	PLK1 pKl ₅₀	HCT116 Kl ₅₀ , (мкмоль)	H460 Kl ₅₀ , (мкмоль)	MCF7 Kl ₅₀ , (мкмоль)	RKO Kl ₅₀ , (мкмоль)	HFF Kl ₅₀ , (мкмоль)	% Зв'язування білку	Розчинність (мкмоль)
1	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++
2	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++
3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++
5	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++
6	+++	+++	+++	ND	+++	++	+++	+++
7	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
8	+++	+++	+++	ND	+++	+++	+++	+++
Сп. Пр. 127	+++	++	+++	++	+++	+	+	+
Сп. Пр. 126	+++	+++	+++	+	+++	++	+	ND
Сп. Пр. 121	++	+	+	+	+	+	++	ND
Сп. Пр. 136	++	++	++	++	++	+	+++	ND
Сп. Пр. 143	++	++	+	++	++	+	+++	+

ND: не визначали

У таблиці 1 показано, що тепер сполуки мають кращі властивості в порівнянні із прикладами контролю. Наприклад, сполуки 1-8 мають вищу ферментну та клітинну силу в порівнянні із прикладами 121,136 та 143 в аналізі ферменту PLK1 та аналізі проліферації клітин із метиленовим синім у численних досліджених клітинних лініях. Приклади сполук 1-8 мають вищу розчинність в 0,05М фосфатному буфері при рН 7,4, у порівнянні із прикладом 127. Приклади сполук 1-3 та 5-8 мають краще зв'язування білку в сироватці людини згідно

з аналізом рівноважного діалізу в порівнянні із прикладами 126 та 127.

V. Клітинний-титр-Glo -інгібування проліферації клітини інгібіторами PLK1

Клітинні лінії пухлин різного походження культивовані у відповідному середовищі, що містить 10% коров'ячої ембріональної сироватки при 37°C в 5% CO₂-інкубаторі, наносили при низькій щільності (менш 2000 клітин/комірку) в 96-коміркові планшети. Через двадцять чотири годин після нанесення покриття клітини обробляли різними кон-

центраціями сполуки тесту в діапазоні 10мкмоль - 0,04 нмоль. Декілька комірок залишали необробленими як контроль. Через сімдесят дві години після обробки число клітин визначали, застосовуючи 50-100мкл на комірку клітинного титру Glo (Promega #G7573). Планшети інкубували при кімнатній температурі протягом 15 хвилин та сигнал хемілюмінесценції зчитували на зчитувачі Victor V або Envision 2100.

Процент інгібування клітинного росту виражали як процент проліферації стосовно 100% проліферації (контроль). Концентрацію сполуки тесту,

що інгібувала 50% клітинного росту (KI_{50}), визначали апроксимацією 4 параметрів даних, застосовуючи XLfit, (величину контролю без клітин віднімали з усіх зразків для фону). Дані клітинного титру-Glo показано нижче в таблиці 2 та представлено компіляцію декількох різних експериментів, кожний робили, застосовуючи загальні параметри, наведені вище, хоча в деяких обставинах можна застосовувати менше варіацій. У таблиці 2:
 $+=KI_{50}>1\text{мкмоль}$; $++=KI_{50}$ 0,5-1мкмоль;
 $+++ = KI_{50}<0,5\text{мкмоль}$.

Таблиця 2

Клітинна лінія	Пр.1	Пр. 2	Пр. 3	Пр. 4	Пр. 5	Пр. 6	Пр. 7	Пр. 8
HCT116 KI_{50}	ND	ND	+++	ND	+++	ND	ND	ND
A549-L KI_{50}	ND	ND	+++	ND	+++	ND	ND	ND
COLO205 KI_{50}	ND	ND	+++	ND	+++	ND	ND	ND
HT29 KI_{50}	ND	ND	+++	ND	+++	ND	ND	ND
MX-1 KI_{50}	ND	ND	+++	ND	+++	ND	ND	ND
SKOV-3 KI_{50}	ND	ND	+++	ND	+++	ND	ND	ND
LNCaP KI_{50}	ND	ND	+++	ND	ND	ND	ND	ND
P388 KI_{50}	ND	ND	+++	ND	ND	ND	ND	ND
H1299 KI_{50}	ND	ND	+++	ND	+++	ND	ND	ND
Hela KI_{50}	ND	ND	+++	ND	ND	ND	ND	ND
HN5 KI_{50}	ND	ND	+++	ND	ND	ND	ND	ND
MCF7 KI_{50}	ND	ND	+++	ND	+++	ND	ND	ND
MV522 KI_{50}	ND	ND	+++	ND	+++	ND	ND	ND
MDA-MB-468 KI_{50}	ND	ND	+++	ND	+++	ND	ND	ND
PANC-1 KI_{50}	ND	ND	+++	ND	ND	ND	ND	ND
MiaPaca KI_{50}	ND	ND	+++	ND	ND	ND	ND	ND
ASPC3 KI_{50}	ND	ND	+++	ND	ND	ND	ND	ND
BXPC3 KI_{50}	ND	ND	+++	ND	ND	ND	ND	ND