



MD/EP 3322711 T2 2021.07.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3322711 (13) T2

(51) Int. Cl.:C07D 495/04 (2006.01.01)

A61K 31/4436 (2006.01.01)

A61K 31/444 (2006.01.01)

A61K 31/4545 (2006.01.01)

A61K 31/496 (2006.01.01)

A61K 31/551 (2006.01.01)

A61K 39/395 (2006.01.01)

A61P 35/00 (2006.01.01)

A61K 45/06 (2006.01.01)

A61K 31/4355 (2006.01.01)

A61K 31/5355 (2006.01.01)

A61K 31/5377 (2006.01.01)

A61K 39/00 (2006.01.01)

C07K 16/28 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

(21) Numărul de depozit: e 2018 0529 (22) Data de depozit: 2016.06.23 (96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european:16813437.7, 2016.06.23 (97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european:3322711, 2018.05.23 (31) Numărul cererii prioritare: 201562184348 P (32) Data de depozit a cererii prioritare: 2015.06.25 (33) Țara cererii prioritare: US	(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 07/2021, 2021.07.31 (80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 10/2021, 2021.03.10 (82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 07/2018, 2018.07.31
(71) Solicitant: UNIVERSITY HEALTH NETWORK, CA (72) Inventatori: SAMPSON Peter Brent, CA; PATEL Narendra Kumar B., CA; PAULS Heinz W., CA; LI Sze-Wan, CA; NG Grace, CA; LAUFER Radoslaw, CA; LIU Yong, CA; LANG Yunhui, CA (73) Titular: UNIVERSITY HEALTH NETWORK, CA (74) Mandatar autorizat: CORCODEL Angela	

(54) Inhibitori HPK1 și metode de utilizare a acestora

(57) Rezumat:

1

Sunt descriși compușii tienopiridinonici cu Formula (I) și sărurile acceptabile

2

farmaceutic ale acestora. În acești compuși, unul dintre X1; X2 și X3 sunt S și celelalte

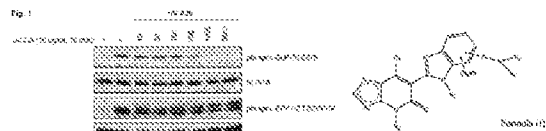
MD/EP 3322711 T2 2021.07.31

două sunt fiecare independent CR, în care R și toate celelalte variabile sunt definite aici. Se arată că compușii inhibă activitatea kinazei HPK1 și au activitate antitumorală in vivo. Compușii pot fi combinați eficient cu purtători acceptabili farmaceutic și, de asemenea, cu alte abordări imunomodulatoare, cum ar fi inhibarea punctului de control sau inhibitorii oxidării triptofanului. Formula (I).

(54) HPK1 inhibitors and methods of using same

(57) Abstract:

1
Thienopyridinone compounds of Formula (I) and pharmaceutically acceptable salts thereof are described. In these compounds, one of X1; X2, and X3 is S and the other two are each independently CR, wherein R and all other variables are as defined herein. The compounds are shown to inhibit HPK1 kinase activity and to have in vivo antitumor activity. The compounds can be



Revendicări: 14

Figuri: 3

2
effectively combined with pharmaceutically acceptable carriers and also with other immunomodulatory approaches, such as checkpoint inhibition or inhibitors of tryptophan oxidation. Formula (I).

Claims: 14

Fig.: 3

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)****APLICAȚII CONEXE**

- 5 Această cerere solicită beneficiul Cererii Provizorii SUA nr. 62/184.348, depusă la 25 iunie 2015.

STADIUL TEHNICII

- Progenitor kinaza 1 hematopoietică (HPK1) este o serină/treonină kinază Ste20 cu restricție celulară hematopoietică. Activitatea kinazei HPK1 poate fi indusă de semnale de activare generate de diferiți receptori de suprafață celulară diferiți găsiți în celulele hematopoietice la angajarea ligandului. Angajarea ligandului sau reticularea mediată de anticorpi a receptorilor de celule T (TCR), a receptorului de antigen al celulelor B (BCR)(Liou și colab., 2000, Immunity 12:399), transformarea receptorului β al factorului de creștere (TGF- β R)(Wang și colab., 1997, J. Biol. Chem. 272:22771; Zhou și colab., 1999, J. Biol. Chem. 274:13133), receptorul eritropoietinei (EPOR) (Nagata și colab., 1999, Blood 93:3347) și Fas (Chen și colab., 1999, Oncogene 18: 7370) poate induce activitatea kinazei HPK1. Fiecare receptor utilizează mecanisme de semnalizare unice, dar uneori suprapuse, pentru a activa HPK1. HPK1 acționează ca un modulator descendent al funcțiilor celulelor T și B prin căile AP-1, NF κ B, Erk2 și Fos; *de exemplu*, HPK1 a fost implicat ca un regulator negativ al transducției semnalului în celulele T prin fosforilare și activarea proteinei adaptorului receptorului de celule T SLP-76 (Di Bartolo și colab., 2007, J. Exp. Med. 204:681), ceea ce duce la reglarea negativă ulterioară a căilor AP-1 și Erk2. În celulele B, HPK1 reglează în jos semnalul receptorului celulei B (BCR) prin fosforilarea paralogului SLP-76 BLINK (Wang și colab., 2012, J. Biol. Chem. 287: 11037).

- Astfel, HPK1 este acum privit ca o posibilă țintă pentru intervenția terapeutică. *De exemplu*, s-a raportat că HPK1 poate fi o țintă nouă pentru imunoterapia împotriva cancerului (Sawasdikosol și colab., Immunol Res. Decembrie 2012; 54(1-3):262-5). În mod specific, intreruperea țintită a alelelor HPK1 conferă celulelor T cu o producție crescută de citokine Th1 ca răspuns la angajarea TCR. Celulele T HPK1 (-/-) proliferază mai rapid decât omologul de tip sălbatic asortat cu haplotip și sunt rezistente la suprimarea mediată de prostaglandina E2 (PGE (2)). Cel mai izbitor, șoarecii care au primit transfer adoptiv de celule T HPK1 (-/-) au devenit rezistenți la creșterea tumorii pulmonare. De asemenea, pierderea HPK1 din celulele dendritice (DC-uri) le conferă o capacitate superioară de prezentare a antigenului, permițând HPK1 (-/-) DC-urilor să obțină un răspuns imun anti-tumoral mai puternic atunci când este utilizat ca vaccin împotriva cancerului.

- Atunci când se evaluează dacă un inhibitor cu molecule mici de HPK1 ar captura fenotipul șoarecilor cu întreruperea țintită a genei, este important să se ia în considerare rolurile necatalitice ale proteinei. În special, în timp ce HPK1 de lungime completă poate promova activarea mediată de TCR a factorului nuclear amplificator-lanț-ușor-kappa a căii celulelor B activate (NF- κ B), produsul de clivare inactiv catalitic HPK1-C poate suprima activarea NF- κ B după restimularea TCR, ducând la moartea celulară indusă de activare (AICD)(Brenner și colab., EMBO J. 2005, 24:4279). Luând împreună rolurile catalitice și necatalitice ale HPK1, este posibil ca blocarea activității kinazei HPK1 cu un inhibitor de molecule mici să poată promova activarea celulelor B și T, ducând la imunitate anti-tumorală superioară, facilitând totodată AICD, ajutând la menținerea toleranței imune periferice. Efectele exacte ale unui inhibitor HPK1 ar fi confirmate prin testarea pe modele de șoareci de cancer, cum ar fi xenogrefele tumorale simgenice. Având în vedere că HPK1 nu este exprimat în niciun organ major, în afara sistemului hematopoietic, este mai puțin probabil ca un inhibitor al activității kinazei HPK1 să provoace efecte secundare grave.

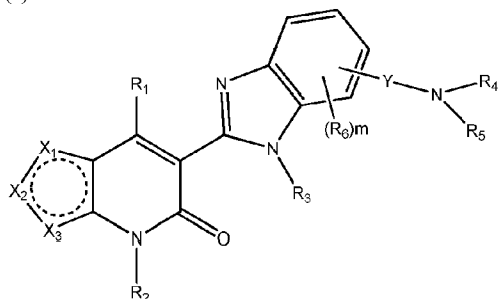
Având în vedere cele de mai sus, există o necesitate în domeniu pentru compuși noi care pot inhiba HPK1.

50 REZUMATUL INVENȚIEI

- Solicitantul a descoperit acum că anumiți compuși de tienopiridinonă sunt inhibitori HPK1 (vezi Exemplul B). Au, de asemenea, activități inhibitoare împotriva FLT3 și LCK (vezi Exemplul C). În plus, s-a demonstrat că anumiți compuși de tienopiridinonă ca inhibitori HPK1 singuri și în combinație cu anticorpi anti-PD-1 sunt eficienți în modele preclinice cu anumite tipuri de celule canceroase (vezi Exemplul E). Terapiile combinate particulare dezvoltate aici demonstrează o activitate biologică surprinzătoare cu efecte anticanceroase semnificative. Mai exact, odată cu combinația de inhibitori HPK1 și anticorpi anti-PD-1, s-au demonstrat acum răspunsuri semnificative în urma blocării PD-1/PD-L1 în carcinomul de colon CT26.WT. Pe baza acestor descoperiri, compușii tienopiridinonă, compozițiile farmaceutice ale acestora și metodele de utilizare a acestora sunt dezvoltate aici.

Variantele de realizare invenției sunt așa cum sunt definite în revendicările anexate. Alte variante de realizare ilustrative sunt descrise în cele ce urmează.

O variantă de realizare a dezvoltării este un compus reprezentat de Formula Structurală (I):



(I);

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia. Valorile pentru fiecare dintre variabile sunt furnizate mai jos.

O altă variantă de realizare a dezvoltării este o compoziție farmaceutică cuprinzând un purtător sau diluant acceptabil farmaceutic și un compus reprezentat prin Formula Structurală (I) descrisă mai sus sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

O altă variantă de realizare a dezvoltării este o metodă de tratare a unui subiect cu o boală care poate fi reglată de HPK1 cuprinzând administrarea la subiect a unei cantități eficiente dintr-un compus cu Formula Structurală (I) sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

O altă variantă de realizare este o metodă de inhibare a activității HPK1 la un subiect care are nevoie de inhibarea activității HPK1, cuprinzând administrarea la subiect a unei cantități eficiente dintr-un compus reprezentat de Formula Structurală (I) sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

O altă variantă de realizare este un compus reprezentat de Formula Structurală (I) sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia pentru utilizare în terapie. În unele variante de realizare, terapia este pentru tratarea unui subiect cu cancer. Alternativ, terapia este pentru inhibarea activității HPK1 la un subiect care are nevoie de inhibarea activității HPK1.

O altă variantă de realizare este utilizarea unui compus reprezentat de Formula Structurală (I) sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia pentru fabricarea unui medicament pentru tratarea unui subiect cu cancer.

O altă variantă de realizare pentru utilizare a unui compus reprezentat de formule structurale (I) sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia pentru fabricarea unui medicament pentru inhibarea activității HPK1 la un subiect care are nevoie de inhibarea activității HPK1.

Prezenta dezvoltare se referă de asemenea la o metodă de tratare a unui subiect cu cancer, care cuprinde administrarea la subiect a unei cantități eficiente dintr-un inhibitor de HPK1 (*de exemplu*, un compus reprezentat prin Formula Structurală (I)) sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, și un al doilea tratament eficient anti-cancer (*de exemplu*, un agent chimioterapeutic, un agent terapeutic vizat, radioterapie sau intervenții chirurgicale). Într-un exemplu, al doilea tratament anti-cancer este un inhibitor PD-1.

Prezenta dezvoltare se referă de asemenea la o metodă de tratare a unui subiect cu cancer, care cuprinde administrarea la subiect a unei cantități eficiente dintr-un inhibitor de HPK1 (*de exemplu*, un compus reprezentat prin Formula Structurală (I)) sau sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, precum și o cantitate eficientă dintr-un agent imunomodulator, cum ar fi un inhibitor al punctului de control (*de exemplu*, anticorp anti-PD-1, anticorp anti-CTLA4 sau anticorp anti-PD-L1) sau un inhibitor al oxidării triptofan (*de exemplu* inhibitor al IDO1, IDO2 sau TDO2). Într-un exemplu, agentul imunomodulator este anticorpul anti-PD-1.

Într-o variantă de realizare, prezenta dezvoltare oferă în plus utilizarea unui inhibitor HPK1 (*de exemplu*, un compus reprezentat de Formula Structurală (I) sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia), pentru fabricarea unui medicament pentru tratamentul unui subiect cu cancer, în combinație cu un inhibitor PD-1, cum ar fi nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab, BMS 936559, MPDL3280A, MSB0010718C sau MEDI4736. Preferabil, inhibitorul PD-1 este nivolumab. Alternativ, inhibitorul PD-1 este pembrolizumab. Într-o variantă de realizare, inhibitorul PD-1 este anticorp anti-PD1.

Într-o alternativă, inhibitorul HPK1 este administrat cu o cantitate eficientă de una sau mai multe alte terapii anti-cancer și, preferabil, în combinație cu inhibitorul PD-1.

SCURTĂ DESCRIERE A DESENELOR

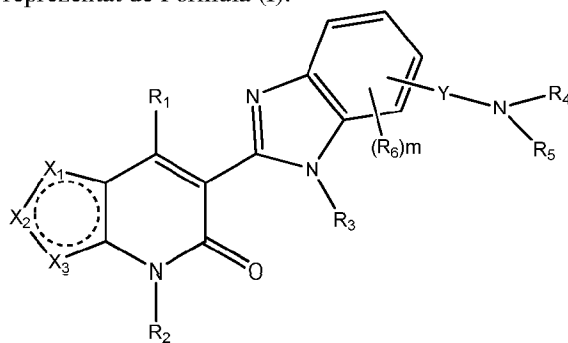
Figura 1 arată efectul inhibitor al compusului exemplu A30 împotriva fosforilării serinei 376 SLP-76 în celulele Jurkat E6.1 stimulate de α -CD3.

Figura 2 este un grafic care ilustrează procentul de inhibare a creșterii tumorii după administrarea compusului A1 singur și în combinație cu un anticorp anti-PDL.

Figura 3 arată efectul compusului exemplu A30 în modelul de progresie a bolii EAE.

DESCRIEREA DETALIATĂ A INVENȚIEI

Într-o primă variantă de realizare, dezvăluirea este direcționată către un compus reprezentat de Formula (I):



(I);

sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia, în care:

unul dintre X_1 , X_2 și X_3 este S, celelalte două sunt fiecare independent CR, în care R este -H, -F, -Cl, -Br, -CN, -NH₂, -OH, (C₁-C₆)alchil opțional substituit, (C₁-C₆)alcoxi opțional substituit, -(CH₂)_n(C₃-C₁₀)cicloalchil opțional substituit, heterociclicul monociclic -(CH₂)_n-3-7 membri opțional substituit, -(CH₂)_nfenil opțional substituit, heteroaril monociclic -(CH₂)_n-5-7 membri opțional substituit, (C₆-C₁₂)cicloalchil -(CH₂)_n-cu punte opțional substituit, heterociclicul -(CH₂)_n-6-12 membri cu punte opțional substituit, heteroaril biciclic -(CH₂)_n-7-12 membri opțional substituit, sau heteroaril biciclic -(CH₂)_n-12 membri opțional substituit;

Y este o legătură, -CH₂-, -C(=O)-;

R₁ este -NR^aR^b sau -OR^{a1};

R^a pentru fiecare apariție este independent -H, (C₁-C₆)alchil opțional substituit, -(CH₂)_n(C₃-C₁₀)cicloalchil opțional substituit, heterociclicul -(CH₂)_n-3-10 membri opțional substituit, -(CH₂)_n(C₆-C₁₀)aril opțional substituit, heteroaril -(CH₂)_n-5-10 membri opțional substituit, (C₆-C₁₂)cicloalchil -(CH₂)_n-cu punte opțional substituit, sau heterociclicul -(CH₂)_n-6-12 membri cu punte opțional substituit;

R^b pentru fiecare apariție este independent -H sau -(C₁-C₆); sau,

R^a și R^b împreună cu azotul la care aceștia sunt atașați, formează -(C₃-C₁₀)heterociclicul opțional substituit;

R^{a1} pentru fiecare apariție este independent -H, (C₁-C₆)alchil opțional substituit, (C₃-C₁₀)cicloalchil opțional substituit, în heterociclicul cu 3-10 membri opțional substituit, (C₆-C₁₀)aril opțional substituit, sau heteroaril cu 3-10 membri opțional substituit; sau

R₂ și R₃ sunt fiecare independent -H sau -(C₁-C₆)alchil;

R₄ și R₅ sunt fiecare independent -H, (C₁-C₆)alchil opțional substituit, (C₃-C₁₀)cicloalchil opțional substituit, heterociclicul cu 3-10 membri opțional substituit, (C₆-C₁₀)aril opțional substituit, heteroaril cu 5-10 membri opțional substituit, (C₆-C₁₂)cicloalchil cu punte opțional substituit sau heterociclicul cu 6-12 atomi cu punte opțional substituit; sau

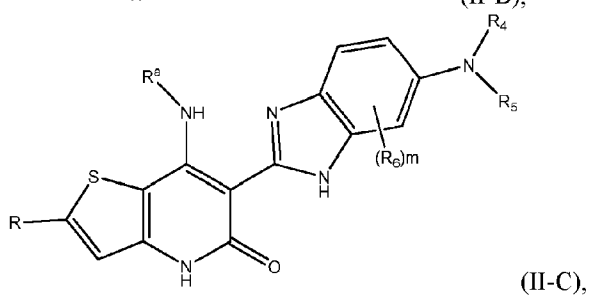
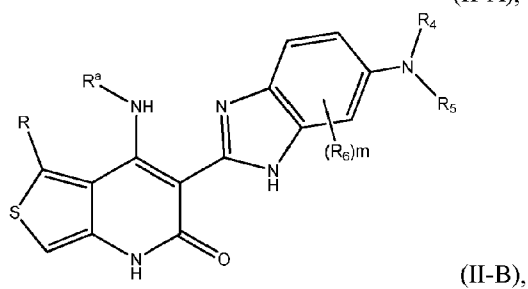
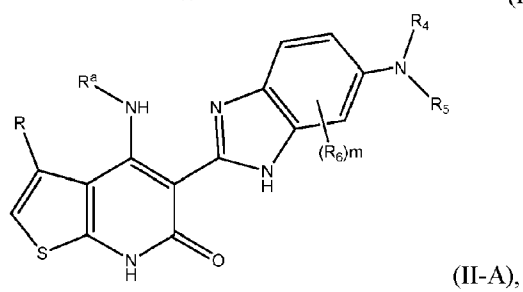
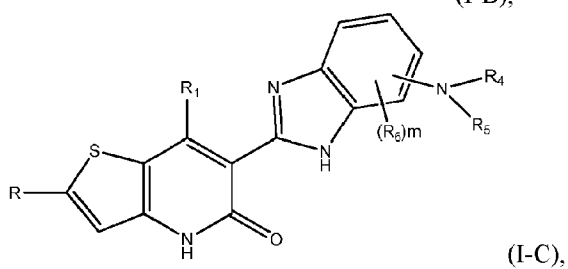
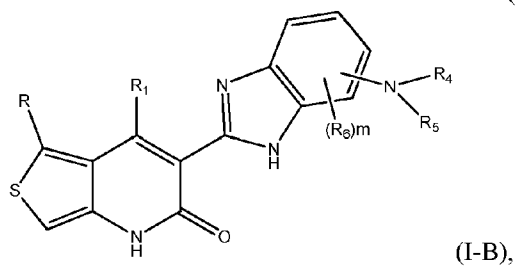
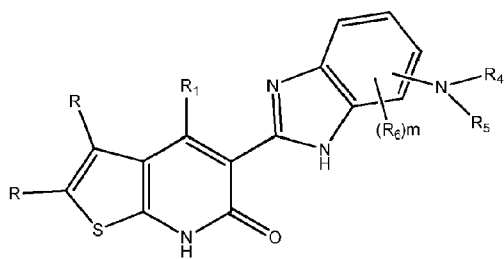
R₄ și R₅, împreună cu azotul la care aceștia sunt atașate, formează heterociclicul cu 4-10 membri opțional substituit, heteroaril cu 5-10 membri opțional substituit sau heterociclicul cu 6-12 membri cu punte opțional substituit;

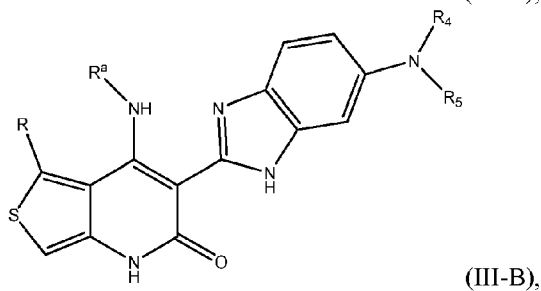
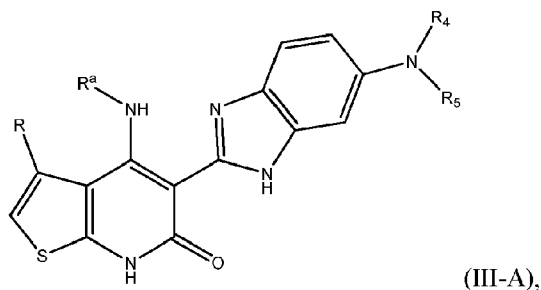
R₆ pentru fiecare apariție este independent -F, -Cl, -Br, -CN, -NH₂, -OH, -(C₁-C₆)alchil, -(C₁-C₆)haloalchil, -(C₂-C₆)alchenil, -(C₂-C₆)alchinil, (C₃-C₆)cicloalchil, -(C₁-C₆)alcoxi, -(C₁-C₆)haloalcoxi, -(C₁-C₆)alchilenă-OH sau -(C₁-C₆)alchilenă-NH₂;

m este 0, 1, 2 sau 3; și

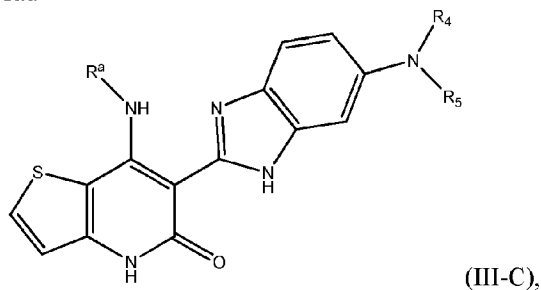
n este 0, 1 sau 2.

Într-o a doua variantă de realizare, este dezvăluit un compus reprezentat prin Formula Structurală (I-A)-(I-C), (II-A)-(II-C) sau (III-A)-(III-C):





sau



- 5 sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia. Valorile variabilelor din Formulele Structurale (I-A)-(I-C), (II-A)-(II-C) și (III-A)-(III-C) sunt cele descrise pentru Formula Structurală (I).

10 Intr-o a treia variantă de realizare, este dezvăluit un compus reprezentat prin Formula Structurală (I), (I-A)-(I-C), (II-A)-(II-C) sau (III-A)-(III-C), în care R₄ și R₅, împreună cu azotul la care sunt atașate, formează heterociclul monociclic cu 4-7 membri sau heterociclul cu 6-12 membri cu punte, în care heterociclul monociclic cu 4-7 membri sau heterociclul cu 6-12 membri cu punte este opțional substituit cu 1-3 grupe selectate dintre -F, -Cl, -Br, -CN, -NH₂, -OH, oxo, -(C₁-C₄)alchil, -(C₁-C₄)haloalchil, -(C₁-C₄)alcoxi, -(C₁-C₄)haloalcoxi, -(C₁-C₄)alchilenă-OH sau -(C₁-C₄)alchilenă-NH₂. Valorile pentru restul variabilelor sunt cele descrise pentru Formula Structurală (I).

15 Intr-o a patra variantă de realizare, este dezvăluit un compus reprezentat prin Formula Structurală (I), (I-A)-(I-C), (II-A)-(II-C) sau (III-A)-(III-C), în care R^a pentru fiecare apariție este independent -H, -(C₁-C₆)alchil, -(CH₂)_n-(C₃-C₇)cicloalchil, heterociclul monociclic -(CH₂)_n-4-7 membri, (C₆-C₁₂)cicloalchil -(CH₂)_n-cu punte, heteroaril -(CH₂)_n-5-10 membri opțional substituit; sau heterociclul -(CH₂)_n-6-12 membri cu punte, în care -(C₁-C₆)alchil, -(CH₂)_n-(C₃-C₇)cicloalchil, heterociclul monociclic -(CH₂)_n-4-7 membri, (C₆-C₁₂)cicloalchil -(CH₂)_n-cu punte, heteroaril -(CH₂)_n-5-10 membri, sau heterociclul -(CH₂)_n-6-12 membri cu punte, este opțional substituit cu 1-3 grupe selectate dintre -F, -Cl, -Br, -CN, -NH₂, -OH, oxo, -(C₁-C₄)alchil, -(C₁-C₄)haloalchil, -(C₁-C₄)alcoxi, -(C₁-C₄)haloalcoxi, -(C₁-C₄)alchilenă-OH sau -(C₁-C₄)alchilenă-NH₂ și valori pentru restul variabilelor sunt cele descrise mai sus pentru Formula Structurală (I) sau în a treia variantă de realizare.

20 Intr-o a cincea variantă de realizare, este dezvăluit un compus reprezentat prin Formula Structurală (I), (I-A)-(I-C), (II-A)-(II-C) sau (III-A)-(III-C), în care R este H, -F, -Cl, -Br, -OH, -(C₁-C₄)alchil, -(C₁-C₄)haloalchil, -(C₁-C₄)alcoxi, -(C₁-C₄)alchilenă-OH sau heterociclul monociclic cu 4-7 membri opțional substituit cu 1-3 grupe selectate dintre -F, -Cl, -Br, -OH, -(C₁-C₄)alchil, -(C₁-C₄)haloalchil, sau -(C₁-C₄)alcoxi și valorile pentru restul variabilelor sunt descrise mai sus pentru Formula Structurală (i) sau la a treia sau a patra variantă de realizare.

30 Intr-o a șasea variantă de realizare, este dezvăluit un compus reprezentat prin Formula Structurală (I), (I-A)-(I-C), (II-A)-(II-C) sau (III-A)-(III-C), în care R₄ și R₅, împreună cu azotul la care sunt atașate, formează -N-alchil-piperazinil sau morfolinil, în care piperazinil sau morfolinil este opțional substituit cu 1-2 grupe selectate dintre -F, -Br, -OH, -(C₁-C₄)alchil, -(C₁-

C₄)haloalchil, sau -(C₁-C₄)alcoxi și valorile pentru restul variabilelor sunt descrise mai sus pentru Formula Structurală (I) sau în a treia, a patra sau a cincea variantă de realizare.

Intr-o a șasea variantă de realizare, este dezvăluit un compus reprezentat prin Formula Structurală (I), (I-A)-(I-C), (II-A)-(II-C) sau (III-A)-(III-C), în care R^a pentru fiecare apariție este independent -H, -(CH₂)_n-(C₃-C₆)cicloalchil, heterociclic (CH₂)_n-3-6 membri, în care -(CH₂)_n-(C₃-C₆)cicloalchil sau heterociclic -(CH₂)_n-3-6 membri este opțional substituit cu 1-3 grupe selectate dintre -F, -Cl, -Br, -CN, -NH₂, -OH, -(C₁-C₄)alchil sau -(C₁-C₄)alcoxi; și n este 0 sau 1, iar valorile pentru restul variabilelor sunt cele descrise mai sus pentru Formula Structurală (I) sau în a treia, a patra, a cincea sau a șasea variantă de realizare.

Intr-o a opta variantă de realizare, este dezvăluit un compus reprezentat prin Formula Structurală (I), (I-A)-(I-C), (II-A)-(II-C) sau (III-A)-(III-C), în care R este H, -(C₁-C₄)alchil, -(C₁-C₄)alcoxi, N-piperazinil opțional substituit cu -CO₂-(C₁-C₄)alchil și valorile pentru restul dintre variabile sunt cele descrise mai sus pentru Formula Structurală (I) sau în a treia, a patra, a cincea, a șasea sau a șaptea variantă de realizare. Alternativ, R este H.

Intr-o a noua variantă de realizare, este dezvăluit un compus reprezentat prin Formula Structurală (I), (I-A)-(I-C), (II-A)-(II-C) sau (III-A)-(III-C), în care R₄ și R₅, împreună cu azotul de care sunt atașate, formează -N-metil-piperazinil sau morfolinil, ambele care sunt opțional substituite cu unu sau doi metil, iar valorile pentru restul variabilelor sunt descrise mai sus pentru Formula Structurală (I), sau în a treia, a patra, a cincea, a șasea, a șaptea sau a opta variantă de realizare.

Intr-o a zecea variantă de realizare, este dezvăluit un compus reprezentat prin Formula Structurală (I), (I-A)-(I-C), (II-A)-(II-C) sau (III-A)-(III-C), în care R^a pentru fiecare apariție este independent -H; -(C₃-C₆)cicloalchil opțional substituit cu -OH; -(CH₂)_n-tetrahidro-2H-piran; morfolinil; piperidinil opțional substituit cu -F, -OH sau metil; sau tetrahidrofuran; și n este 0 sau 1, iar valorile pentru restul variabilelor sunt cele descrise mai sus pentru Formula Structurală (I) sau în a treia, a patra, a cincea, a șasea, a șaptea, a opta sau a noua variantă de realizare.

Invenția include, de asemenea, compușii descriși prin structură și/sau descriși pe nume în Exemplificare. Invenția include atât forma neutră (bază liberă) a acestor compuși, precum și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestora. Tratamentele cu și/sau utilizările acestor compuși includ forma neutră a acestor compuși precum și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestora.

Termenul "alchil" utilizat singur sau ca parte a unui fragment mai mari, cum ar fi "alcoxi" sau "haloalchil" și altele asemenea, înseamnă radical hidrocarbonat monovalent alifatic saturat cu lanț liniar sau ramificat. Dacă nu se specifică altfel, o grupă alchil are de obicei 1-6 atomi de carbon, *adică* (C₁-C₆)alchil. Așa cum este utilizat aici, o grupă „(C₁-C₆)alchil” înseamnă un radical având de la 1 până la 6 atomi de carbon într-un aranjament liniar sau ramificat. Exemplele includ metil, etil, n-propil, *izo*-propil etc.

"Alcoxi" înseamnă un radical alchil atașat printr-un atom de legare a oxigenului, reprezentat de -O-alchil. *De exemplu*, „(C₁-C₄)alcoxi” include metoxi, etoxi, propoxi, și butoxi.

Termenii "haloalchil" și "haloalcoxi" înseamnă alchil sau alcoxi, după caz, substituit cu unul sau mai mulți atomi de halogen. Termenul "halogen" înseamnă F, Cl, Br sau I. Preferabil, halogenul într-un haloalchil sau haloalcoxi este F.

"Alchenil" înseamnă radical hidrocarbonat monovalent cu lanț drept sau ramificat care conține cel puțin o dublă legătură. Alchenilul poate fi mono sau polinesaturat și poate exista în configurația E sau Z. Dacă nu se specifică altfel, o grupă alchenil are de obicei 2-6 atomi de carbon, *adică* (C₂-C₆)alchenil. *De exemplu*, „(C₂-C₆)alchenil” înseamnă un radical alchil care are 2-6 atomi de carbon într-un aranjament liniar sau ramificat.

"Alchinil" înseamnă un radical hidrocarbonat monovalent cu lanț drept ramificat sau care conține cel puțin o legătură triplă. Dacă nu se specifică altfel, o grupă alchinil are de obicei 2-6 atomi de carbon, *adică* (C₂-C₆)alchinil. *De exemplu*, „(C₂-C₆)alchinil” înseamnă un radical alchil care are 2-6 atomi de carbon într-un aranjament liniar sau ramificat.

„Cicloalchil” înseamnă un radical hidrocarbură ciclic alifatic saturat, conținând în mod tipic de la 3-8 atomi inelari de carbon, *adică*, (C₃-C₈)cicloalchil. (C₃-C₈)cicloalchil include, dar nu se limitează la, ciclopropil, ciclobutil, ciclopentil, ciclohexil, cicloheptil și ciclooctil.

Așa cum este utilizat aici, termenul „cu punte” utilizat singur sau ca parte a unui fragment mai mare ca în "cicloalchil cu punte" sau "heterociclic cu punte" se referă la un sistem de inele care include două inele care au cel puțin trei atomi inelari adiacenți. Cicloalchilul cu punte conține de obicei 6-12 atomi inelari de carbon. Heterociclicul cu punte are de obicei 6-12 atomi inelari selectați dintre carbon și cel puțin unul (de obicei 1 până la 4, mai tipic 1 sau 2) heteroatom (*de exemplu*, oxigen, azot sau sulf).

Termenul "aril" utilizat singur sau ca parte a unui fragment mai mare ca în "arilalchil", "arilalcoxi" sau "ariloxialchil", înseamnă un inel aromatic carbociclic. De asemenea, include un inel fenil fuzionat cu o grupă cicloalchil. Termenul "aril" poate fi utilizat interschimbabil cu

termenii "inel aril" "inel aromatic carbociclic", "grupă aril" și "grupă aromatică carbociclică". O grupă aril are de obicei șase până la paisprezece atomi inelari. Exemplele includ fenil, naftil, antracenil, 1,2-dihidronaftil, 1,2,3,4-tetrahidronaftil, fluorenil, indanil, indenil și altele asemenea. O "grupă aril substituită" este substituită la oricare sau mai mulți atomi inelari substituibili, care

5 este un atom inelar de carbon legat de un hidrogen.

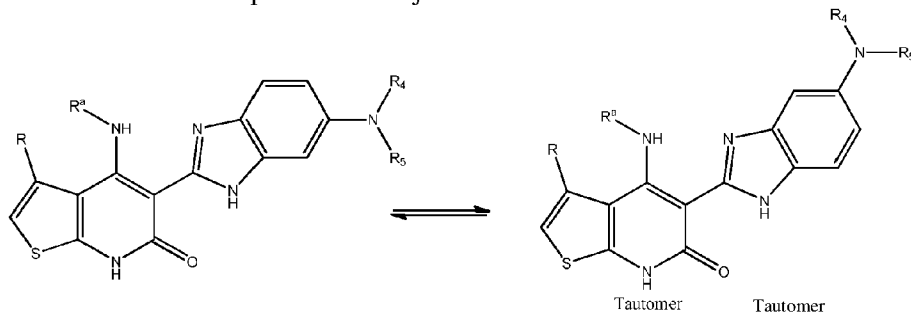
Termenul „heteroaril”, „heteroaromatic”, „inel heteroaril”, „grupă heteroaril”, „inel heteroaromatic” și „grupă heteroaromatic”, sunt folosiți aici în mod interschimbabil. "Heteroaril" atunci când este utilizat singur sau ca parte a unui fragment mai mare ca în "heteroarilalchil" sau "heteroarilalcoxi", se referă la grupe de inele aromatice având cinci până la paisprezece atomi inelari selectați dintre carbon și cel puțin unul (de obicei 1 până la 4, mai tipic 1 sau 2) heteroatomi (de exemplu, oxigen, azot sau sulf). "Heteroaril" include inele monociclice și inele policiclice în care un inel heteroaromatic monociclic este fuzionat cu unul sau mai multe alte inele aril, heterociclic sau heteroaromatic. Ca atare, "heteroaril cu 5-14 membri" include sisteme de inele monociclice, biciclice sau triciclice.

Exemple de grupe heteroaril monociclice cu 5-6 atomi includ furanil (de exemplu, 2-furanil, 3-furanil), imidazolil (de exemplu, N-imidazolil, 2-imidazolil, 4-imidazolil, 5-imidazolil), izoxazolil (de exemplu, 3-izoxazolil, 4-izoxazolil, 5-izoxazolil), oxadiazolil (de exemplu, 2-oxadiazolil, 5-oxadiazolil), oxazolil (de exemplu, 2-oxazolil, 4-oxazolil, 5-oxazolil), pirazolil (de exemplu, 3-pirazolil, 4-pirazolil), pirolil (de exemplu, 1-pirolil, 2-pirolil, 3-pirolil), piridil (de exemplu, 2-piridil, 3-piridil, 4-piridil), pirimidinil (de exemplu, 2-pirimidinil, 4-pirimidinil, 5-pirimidinil), piridazinil (de exemplu, 3-piridazinil), tiazolil (de exemplu, 2-tiazolil, 4-tiazolil, 5-tiazolil), izotiazolil, triazolil (de exemplu, 2-triazolil, 5-triazolil), tetrazolil (de exemplu, tetrazolil), și tienil (de exemplu, 2-tienil, 3-tienil). Exemple de grupe heteroaril policiclice aromatice includ carbazolil, benzimidazolil, benzotienil, benzofuranil, izobenzofuranil, indolil, benzotriazolil, benzotiazolil, benzoxazolil, chinolinil, izochinolinil, indazolil, izoindolil, acridinil sau benzisoxazolil. O "grupă heteroaril substituită" este substituită la oricare sau mai mulți atomi inelari substituibili, care este un atom inelar de carbon sau de azot legat la un hidrogen.

"Heterociclicil" înseamnă un radical inelar nearomatic saturat sau nesaturat cu 3-12 membri care conține opțional una sau mai multe legături duble. Poate fi monociclic, biciclic, triciclic sau fuzionat. Heterocicloalchil conține de la 1 până la 4 heteroatomi, care pot fi identici sau diferiți, selectați dintre N, O sau S. Inelul heterociclicil conține opțional una sau mai multe legături duble și/sau este opțional fuzionat cu unul sau mai multe inele aromatice (de exemplu, inel fenil). Termenul "heterociclicil" este destinat să includă toate formele izomerice posibile. Exemple de heterocicloalchil includ, dar nu sunt limitate la, azetidil, morfolinil, tiomorfolinil, pirolidinonil, pirolidinil, piperidinil, piperazinil, hidantoinil, valerolactamil, oxiranil, oxetanil, dihidroimidazol, dihidrofuranil, dihidropiraniil, dihidropiridinil, dihidropirimidinil, dihidrotienil, dihidrotiofenil, dihidrotiopiraniil, tetrahidroimidazole, tetrahidrofuranil, tetrahidropiraniil, tetrahidrotiofenil, tetrahidropiridinil, tetrahidropirimidinil, tetrahidrotiofenil și tetrahidrotiopiraniil. Exemple de grupe heterocicloalchil policiclice includ dihidroindolil, dihidroizoindolil, dihidrobenzimidazolil, dihidrobenzotienil, dihidrobenzofuranil, dihidroisobenzofuranil, dihidrobenzotriazolil, dihidrobenzotiazolil, dihidrobenzoxazolil, dihidrochinolinil, tetrahidrochinolinil, dihidroizochinolinil, tetrahidroizochinolinil, dihidroindazolil, dihidroacridinil, tetrahidroacridinil, dihidrobenzisoxazolil, croman, cromen, izocroman și izocromen.

Unii dintre compuși descriși aici pot exista sub diverse forme stereoisomerice sau tautomerice. Stereoizomerii sunt compuși care diferă doar prin dispunerea spațială. Când un compus dezvăluit este numit sau descris prin structură fără a indica stereochimie, se înțelege că denumirea sau structura cuprinde toți stereoizomerii, izomerii geometrice posibili, incluzând în mod esențial stereo sau izomeri geometrice, precum și combinația acestora.

În anumite cazuri există forme tautomerice ale compușilor dezvăluiți, cum ar fi structurile tautomerice prezentate mai jos:



Trebuie înțeles că atunci când un compus din prezenta este reprezentat de o formulă structurală sau desemnat printr-o denumire chimică aici, toate celelalte forme tautomerice care pot exista pentru compus sunt cuprinse de Formula Structurală.

- 5 Anumiți compuși dezvăluți pot exista sub diferite forme stereoizomerice. Stereoizomerii sunt compuși care diferă doar prin dispunerea spațială. Enantiomerii sunt perechi de stereoizomeri ale căror imagini în oglindă nu sunt superpozabile, cel mai frecvent deoarece conțin un atom de carbon substituit asimetric care acționează ca un centru chiral. "Enantiomer" înseamnă una dintr-o pereche de molecule care sunt imagini în oglindă unele cu altele și nu sunt superpozabile. Diastereoizomerii sunt stereoizomeri care conțin doi sau mai mulți atomi de carbon substituiți asimetric. „Izomerii geometrici” sunt stereoizomeri care diferă în orientarea atomilor substituenți în raport cu o dublă legătură carbon-carbon, cu un inel carbociclic sau cu un sistem biciclic cu punte.

- 15 Când un izomer geometric este descris după nume sau structură, trebuie înțeles că puritatea izomerică geometrică a izomerului geometric numit sau descris este de cel puțin 60%, 70%, 80%, 90%, 99% sau 99,9% pură în greutate. Puritatea izomerică geometrică este determinată prin împărțirea greutății izomerului geometric numit sau descris în amestec la greutatea totală a tuturor izomerilor geometrici din amestec.

- 20 Când stereochimia unui compus dezvăluit este numită sau descrisă prin structură, stereoizomerul numit sau descris este cel puțin 60%, 70%, 80%, 90%, 99% sau 99,9% în greutate pur în raport cu toți ceilalți stereoizomeri. Procentul în greutate pur în raport cu toți ceilalți stereoizomeri este raportul dintre greutatea unui stereoizomer și greutatea celorlalți stereoizomeri. Când un singur enantiomer este denumit sau descris prin structură, enantiomerul descris sau denumit este de cel puțin 60%, 70%, 80%, 90%, 99% sau 99,9% în greutate optic pur (denumit și "enantiomeric pur"). Procentul de puritate optică în greutate este raportul dintre greutatea enantiomerului și greutatea enantiomerului plus greutatea izomerului său optic.

- 25 Când stereochimia unui compus dezvăluit este numită sau descrisă prin structură, iar structura numită sau descrisă cuprinde mai mult de un stereoizomer (de exemplu, ca într-o pereche diastereomerică), trebuie înțeles că unul dintre stereoizomerii cuprinși sau orice amestec de stereoizomerii cuprinși sunt incluși. Trebuie înțeles în plus că puritatea stereoizomerică a stereoizomerilor numiți sau descriși este cel puțin 60%, 70%, 80%, 90%, 99% sau 99,9% în greutate pură față de toți ceilalți stereoizomeri. Puritatea stereoizomerică în acest caz este determinată prin împărțirea greutății totale în amestecul de stereoizomeri cuprinși de denumire sau structură la greutatea totală din amestecul tuturor stereoizomerilor.

- 35 Atunci când un compus dezvăluit este denumit sau descris prin structură fără a indica stereochimia și compusul are un centru chiral, trebuie înțeles că denumirea sau structura cuprinde un enantiomer de compus liber de izomerul optic corespunzător, un amestec racemic al compusului și amestecuri îmbogățite într-un enantiomer față de izomerul său optic corespunzător.

- 40 Când un compus dezvăluit este numit sau descris prin structură fără a indica stereochimia și, de exemplu, compusul are cel puțin două centre chirale, trebuie înțeles că numele sau structura cuprinde un stereoizomer lipsit de alți stereoizomeri, amestecuri de stereoizomeri și amestecuri de stereoizomeri în care unul sau mai mulți stereoizomeri sunt îmbogății față de celălalt stereoizomer(i). De exemplu, numele sau structura poate cuprinde un stereoizomer lipsit de alți diastereomeri, amestecuri de stereoizomeri și amestecuri de stereoizomeri în care unul sau mai mulți diastereomeri este îmbogățit în raport cu celălalt diastereomer(i).

- 45 Amestecurile enantiomerice și diastereomerice pot fi rezolvate în enantiomerii lor componenți sau stereoizomeri prin metode bine cunoscute, cum ar fi cromatografia gazoasă în fază chirală, cromatografia lichidă de înaltă performanță în fază chirală, cristalizarea compusului ca un complex de sare chirală sau cristalizarea compusului într-un solvent chiral. Enantiomerii și diastereomerii pot fi, de asemenea, obținuți din intermediari, reactivi și catalizatori diastereomerici sau enantiomerici puri prin metode sintetice asimetrice bine cunoscute.

- 50 Incluse în prezentele învățături sunt sărurile acceptabile farmaceutic ale compușilor descriși aici. Compușii dezvăluți au grupe aminice bazice și, prin urmare, pot forma săruri acceptabile farmaceutic cu acid(zi) acceptabil(i) farmaceutic. Sărurile de adiție a acidului acceptabile farmaceutic adecvate ale compușilor descriși aici includ sărurile acizilor anorganici (cum ar fi acidul clorhidric, bromhidric, fosforic, metafosforic, azotic și sulfuric) și a acizilor organici (cum ar fi acidul acetic, benzensulfonic, benzoic, etansulfonic, metansulfonic, succinic și trifluoroacetic). Compușii din prezentele învățături cu grupuri acide, cum ar fi acizii carboxilici, pot forma săruri acceptabile farmaceutic cu baze acceptabile farmaceutic. Sărurile de bază acceptabile farmaceutic adecvate includ sărurile de amoniu, sărurile metalelor alcaline (cum ar fi sărurile de sodiu și potasiu) și sărurile metalelor alcalino-pământoase (cum ar fi sărurile de magneziu și calciu). Compușii cu o grupă cuaternară de amoniu conțin, de asemenea, un

contraanion cum ar fi clorură, bromură, iodură, acetat, perclorat și altele asemenea. Alte exemple de astfel de săruri includ clorhidraturi, bromhidraturi, sulfați, metansulfonati, nitrați, acetati, succinați, benzoați și săruri cu aminoacizi precum acidul glutamic.

Compușii descriși aici pot inhiba HPK1. Astfel, în general, compușii descriși aici sunt utili în tratamentul bolilor sau afecțiunilor asociate cu astfel de kinaze.

Într-o variantă de realizare, compușii descriși aici sunt inhibitori HPK1 și sunt utili pentru tratarea bolilor, cum ar fi cancerul, asociate cu astfel de kinază(e).

Un alt aspect al prezentelor învățături se referă la o metodă de tratare a unui subiect cu cancer care cuprinde administrarea la subiect a unei cantități eficiente dintr-un compus descris aici. Într-o variantă de realizare, compușii descriși aici inhibă creșterea unei tumori.

Cancerale care pot fi tratate (inclusiv reducerea probabilității de reapariție) prin metodele din prezentele învățături includ cancerul de sân, cancerul colorectal, cancerul pulmonar, cancerul ovarian, cancerul uterin, cancerul de prostată, leucemiile, limfoamele, cancerul cerebral (inclusiv glioblastomul multiform și neuroblastom), cancer la cap și gât, cancer pancreatic, melanom, carcinom hepatocelular, cancer renal și sarcoame ale țesuturilor moi. Într-o variantă de realizare, cancerul este cancerul de sân, cancerul de colon și cancerul ovarian. Într-o variantă de realizare, cancerul este selectat dintre leucemie, leucemie mieloidă acută, leucemie mielogenă cronică, cancer de sân, cancer de creier, cancer de colon, cancer colorectal, cancer de cap și gât, carcinom hepatocelular, adenocarcinom pulmonar, melanom metastatic, cancer pancreatic, cancer de prostată, cancer ovarian și cancer renal. Într-o variantă de realizare, cancerul este cancerul pulmonar, cancerul de colon, cancerul cerebral, neuroblastomul, cancerul de prostată, melanomul, glioblastomul multiform sau cancerul ovarian. Într-o altă variantă de realizare, cancerul este cancerul pulmonar, cancerul de sân, cancerul de colon, cancerul cerebral, neuroblastomul, cancerul de prostată, melanomul, glioblastomul multiform sau cancerul ovarian. Într-o altă variantă de realizare, cancerul este cancerul de sân, cancerul de colon și cancerul pulmonar. Într-o altă variantă de realizare, cancerul este un cancer de sân. Într-o altă variantă de realizare, cancerul este un cancer de sân subtip bazal sau un cancer de sân subtip luminal B. Într-o altă variantă de realizare, cancerul este un cancer de sân subtip bazal. Într-o altă variantă de realizare, cancerul de sân subtip bazal este cancerul de sân negativ ER (receptor de estrogen), HER2 și PR (receptor de progesteron). Într-o altă variantă de realizare, cancerul este un cancer al țesuturilor moi. Un „cancer al țesuturilor moi” este un termen recunoscut în domeniu care cuprinde tumorile derivate din orice țesut moale al corpului. Astfel de țesut moale conectează, susține sau înconjoară diverse structuri și organe ale corpului, incluzând, dar fără să se limiteze la, mușchi netezi, mușchi scheletic, tendoane, țesuturi fibroase, țesut adipos, vase sanguine și limfatice, țesut perivascular, nervi, celule mezenchimale și țesuturile sinoviale. Astfel, canceralele țesuturilor moi pot fi de țesut adipos, țesut muscular, țesut nervos, țesut articular, vase de sânge, vase limfatice și țesuturi fibroase. Canceralele țesuturilor moi pot fi benigne sau maligne. În general, canceralele maligne ale țesuturilor moi sunt denumite sarcoame sau sarcoame ale țesuturilor moi. Există mai multe tipuri de tumori ale țesuturilor moi, incluzând lipom, lipoblastom, hibernom, liposarcom, leiomiom, leiomiosarcom, rabdomiom, rabdomiosarcom, neurofibrom, schwannom (neurilem), neurom, schwannom malign, neurofibrosarcom, sarcom neurogenic, tenosinovită nodulară, sarcom sinovial, hemangiom, tumoare glomus, hemangiopericitom, hemangioendoteliom, angiosarcom, sarcom Kaposi, limfangiom, fibrom, elastofibrom, fibromatoză superficială, histiocitom fibros, fibrosarcom, fibromatoză, dermatofibrosarcom protuberans (DFSP), histiocitom fibros malign (MFH), mixom, tumoră cu celule granulare, mezenchimoame maligne, sarcom alveolar moale, sarcom epitelioid, sarcom cu celule clare și tumoare cu celule mici desmoplazice. Într-o variantă de realizare particulară, cancerul țesuturilor moi este un sarcom selectat din grupul constând dintr-un fibrosarcom, un sarcom gastro-intestinal, un leiomiosarcom, un liposarcom dediferențiat, un liposarcom pleomorf, un histiocitom fibros malign, un sarcom cu celule rotunde și un sarcom sinovial.

Prezentele învățături oferă, de asemenea, metode de tratare a unui subiect cu o boală care cuprinde administrarea la subiect a unei cantități eficiente dintr-un compus reprezentat de Formula Structurală (I) în combinație cu o terapie imunomodulatoare eficientă (denumită și imunoterapie). Imunoterapia este tratamentul bolii prin utilizarea unui agent imunomodulator pentru a induce, amplifica sau suprima un răspuns imun. Imunoterapiile concepute pentru a provoca sau amplifica un răspuns imun sunt clasificate ca imunoterapii de activare, în timp ce imunoterapiile care reduc sau suprimă sunt clasificate ca imunoterapii de suprimare. Boala descrisă aici este un cancer.

Terapii imunomodulatoare, utilizat singur sau în abordările combinate, includ i) inhibitori ai punctului de control imun blocadei, inclusiv, dar fără să se limiteze la anti-CTLA4 (proteina 4 citotoxică asociată cu limfocite T) anticorpi (*de exemplu* Ipilimumab), agenți care

perturbă PD -1/PD-L1 și interacțiunea PD-L2, *de exemplu* Nivolumab (Opdivo - Bristol Myers Squibb), Pembrolizumab (Keytruda, KM-3475, Merck), Pidilizumab (CT-011, Cure Tech), BMS 936559 (BMS) și MPDL3280A (Roche); și alți receptori inhibitori ai răspunsului imun, *de exemplu* anti-CD47; ii) terapii bazate pe celule (incluzând, dar fără să se limiteze la terapia cu celule dendritice (*de exemplu* Sipuleucel T (Provenge) și terapii adoptive cu celule T, iii), strategii de vaccinare; iv) terapie adoptive cu celule T; v) agenți care previn inhibarea metabolică a răspunsului imun, incluzând inhibitori ai indoleamine 2, 3-dioxigenază (*de exemplu* INCB024360 (Incyte), 1-metil-D-triptofan, indoximod (NewLink Genetics)) sau arginază; și vi) terapie pe bază de citokine, *de exemplu*, interferoni (în special interferon de tip I) și interleukine (*de exemplu* interleukină-2).

Intr-o variantă de realizare, agentul imunomodulator utilizat pentru terapia imunomodulatoare este un inhibitor PD-1, *de exemplu*, un anticorp anti-PD1.

Proteina 1 de moarte celulară programată, cunoscută și sub numele de PD-1 și CD279 (grup de diferențiere 279), este o proteină care la om este codificată de gena PDCD1. PD-1 este un receptor de suprafață celulară care aparține superfamiliei imunoglobulinei și este exprimat pe celule T și celule pro-B. PD-1 leagă doi liganzi, PD-L1 și PD-L2, ambii membri ai familiei B7.

PD-1 și liganzii săi joacă un rol important în reglarea negativă a sistemului imunitar prin prevenirea activării celulelor T, care la rândul său reduce autoimunitatea și promovează autotoleranța. Efectul inhibitor al PD-1 se realizează printr-un mecanism dual de promovare a apoptozei (moartea celulară programată) în celulele T specifice antigenului din ganglionii limfatici, reducând simultan apoptoza în celulele T reglatoare (celulele T supresoare).

Inhibitorul PD-1 utilizat în prezenta invenție include, dar nu se limitează la, nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab, BMS 936559, MPDL3280A, MSB0010718C sau MEDI4736. Printre acestea, BMS 936559, MPDL3280A, MSB0010718C și MEDI4736 leagă ligandul PD-L1, care sunt anticorpi. Atât nivolumab cât și pembrolizumab sunt aprobate de Food and Drug Administration pentru tratamentul melanomului nerezecabil sau metastatic care nu mai răspunde la alte medicamente.

Strategiile de vaccinare includ imunoterapia antimicrobiană, care include vaccinarea, implică activarea sistemului imunitar pentru a răspunde la un agent infecțios.

Terapia adoptivă cu celule T utilizează răspunsuri citotoxice pe bază de celule T pentru a ataca celulele canceroase. Celulele T care au o reactivitate naturală sau modificată genetic la cancerul unui pacient sunt generate in vitro și apoi transferate înapoi în pacientul cu cancer. Un studiu care a folosit limfocite autologe care se infiltrează în tumori a fost un tratament eficient pentru pacienții cu melanom metastatic. Acest lucru poate fi realizat prin luarea de celule T care se găsesc odată cu tumora pacientului, care sunt antrenate să atace celulele canceroase. Aceste celule T sunt denumite limfocite care se infiltrează în tumori (TIL) sunt apoi încurajate să se înmulțească in vitro folosind concentrații mari de IL-2, anti-CD3 și celule alimentatoare alo-reactive. Aceste celule T sunt apoi transferate înapoi în pacient împreună cu administrarea exogenă de IL-2 pentru a spori în continuare activitatea lor anti-cancer.

Prezentele învățături oferă, de asemenea, metode de tratare a unui subiect cu un cancer, cuprinzând administrarea la subiect a unei cantități eficiente dintr-un compus reprezentat de Formula Structurală (I) în combinație cu o terapie anti-cancer eficientă. Într-o variantă de realizare, cancerul este un cancer metastatic. Un „cancer metastatic” este un cancer care s-a răspândit de la locul său primar în alte părți ale corpului.

Terapia anti-cancer descrisă aici include co-administrarea unei cantități eficiente dintr-un al doilea agent anticancer împreună cu un inhibitor HPK-1 dezvoltat. Un „agent anticancer” este un compus care, atunci când este administrat într-o cantitate eficientă la un subiect cu cancer, poate realiza, parțial sau substanțial, unul sau mai multe dintre următoarele: oprirea creșterii, reducerea extinderii unui cancer (de exemplu, reducerea dimensiunii unei tumori), inhibarea ratei de creștere a unui cancer și ameliorarea sau îmbunătățirea unui simptom clinic sau a unui indicator asociat cu un cancer (cum ar fi componentele tisulare sau serice) sau creșterea longevității subiectului.

Agenții anti-cancer adecvați pentru utilizarea în metodele descrise aici includ orice agenți anti-cancer care au fost aprobați pentru tratamentul cancerului. Într-o variantă de realizare, agentul anticancer include, dar nu se limitează la, un anticorp țintit, un inhibitor al angiogenezei, un agent alchilant, un antimetabolit, un alcaloid vinca, un taxan, o podofilotoxină, un inhibitor de topoizomerază, un agent hormonal antineoplazic și alți agenți antineoplazici. Într-o variantă de realizare, agentul anticancer este un inhibitor PD-1, *de exemplu*, un anticorp anti-PD1.

Intr-o variantă de realizare, agenții anticanceroși care pot fi utilizați în metodele descrise aici includ, dar nu se limitează la, paclitaxel, docetaxel, 5-fluoruracil, trastuzumab, lapatinib, bevacizumab, letrozol, goserelin, tamoxifen, cetuximab, panitumumab, gemcitabină, capecitabină,

irinotecan, oxaliplatină, carboplatină, cisplatină, doxorubicină, epirubicină, ciclofosfamidă, metotrexat, vinblastină, vincristină, melfalan, citarabină, etopozidă, daunorubicină, bleomicină, mitomicină și adriamicină și o combinație a acestora.

5 Intr-o variantă de realizare, agentul anticancer și compusul reprezentat de Formula Structurală (I) sunt administrate simultan. Când se administrează simultan, agentul anticancer și compusul pot fi administrate în aceeași formulare sau în formulări diferite. Alternativ, compusul și agentul anti-cancer suplimentar sunt administrate separat în momente diferite.

10 Așa cum este utilizat aici, „tratarea unui subiect cu cancer” include realizarea, parțial sau substanțial, una sau mai multe dintre următoarele: stoparea creșterii, reducerea extinderii cancerului (*de exemplu*, reducerea dimensiunii unei tumori), inhibarea ratei de creștere a cancerului, ameliorarea sau îmbunătățirea unui simptom clinic sau a unui indicator asociat cu cancerul (cum ar fi componentele tisulare sau serice) sau creșterea longevității subiectului; și reducerea probabilității de reapariție a cancerului.

15 Termenul „cantitate eficientă” înseamnă o cantitate administrată subiectului care are ca rezultat rezultate benefice sau dorite, inclusiv rezultate clinice, *de exemplu*, inhibă, suprimă sau reduce cancerul (*de exemplu*, determinat de simptomele clinice sau de cantitatea de celule canceroase) la un subiect în comparație cu un martor.

20 În general, o cantitate eficientă dintr-un compus predat aici variază în funcție de diferiți factori, cum ar fi medicamentul sau compusul dat, formularea farmaceutică, calea de administrare, tipul de boală sau tulburare, identitatea subiectului sau a gazdei tratate, și altele asemenea, dar pot fi totuși determinate în mod obișnuit de către un specialist în domeniu. O cantitate eficientă dintr-un compus din prezentele învățături poate fi determinată cu ușurință de către o persoană de specialitate obișnuită prin metode de rutină cunoscute în domeniu.

25 Intr-o variantă de realizare, o cantitate eficientă dintr-un compus predat aici variază de la aproximativ 0,1 până la aproximativ 1000 mg/kg în greutate corporală, alternativ de la aproximativ 1 până la aproximativ 500 mg/kg în greutate corporală. Într-o altă variantă de realizare, o cantitate eficientă dintr-un compus învățat aici variază de la aproximativ 0,5 până la aproximativ 5000 mg/m², în mod alternativ de la aproximativ 5 până la aproximativ 2500 mg/m², și într-o altă alternativă de la aproximativ 50 până la aproximativ 1000 mg/m². Specialiștii în domeniu vor aprecia că anumiți factori pot influența doza necesară pentru tratarea eficientă a unui subiect care suferă de cancer sau poate reduce probabilitatea reapariției unui cancer. Acești factori includ, dar nu se limitează la, severitatea bolii sau tulburării, tratamentele anterioare, starea generală de sănătate și/sau vârsta subiectului și alte boli prezente.

35 Un "subiect" este un mamifer, preferabil un om, dar poate fi și un animal care are nevoie de tratament veterinar, *de exemplu*, animale de companie (*de exemplu*, caini, pisici și altele asemenea), animale de fermă (*de exemplu*, vaci, oi, porci, cai și altele asemenea) și animale de laborator (*de exemplu*, șobolani, șoareci, cobai și altele asemenea).

40 Compușii prezentați aici pot fi administrate unui pacient într-o varietate de forme în funcție de calea de administrare selectată, așa cum va fi înțeles de către specialiștii în domeniu. Compușii din prezentele învățături pot fi administrați, *de exemplu*, prin administrare orală, parenterală, bucală, sublinguală, nazală, rectală, plasture, pompă sau transdermică și compozițiile farmaceutice formulate corespunzător. Administrarea parenterală include moduri de administrare intravenoasă, intraperitoneală, subcutanată, intramusculară, transepitelială, nazală, intrapulmonară, intratecală, rectală și topică. Administrarea parenterală poate fi prin perfuzie continuă pe o

45 perioadă de timp selectată. Compușii prezentați aici pot fi formulați corespunzător în compoziții farmaceutice pentru administrare la un subiect. Compozițiile farmaceutice din prezentele învățături includ opțional unul sau mai mulți purtători și/sau diluanți acceptabili farmaceutic ai acestora, cum ar fi lactoză, amidon, celuloză și dextroză. Alți excipienți, cum ar fi agenți de aromatizare; îndulcitori; și conservanți, cum ar fi metil, etil, propil și butil parabenii, pot fi, de asemenea, incluși. Lista mai completă a excipienților potriviți poate fi găsită în Handbook of Pharmaceutical Excipients (Ediția a 5-a, Pharmaceutical Press (2005)). O persoană de specialitate în domeniu ar ști cum să pregătească formulări adecvate pentru diferite tipuri de căi de administrare. Procedurile convenționale și ingredientele pentru selectarea și prepararea formulărilor adecvate sunt descrise, de exemplu, în Remington's Pharmaceutical Sciences (2003- Ediția a 20-a) și în The United States Pharmacopeia: The National Formulary (USP 24 NF19) publicat în 1999. Purtătorii, diluanții și/sau excipienții sunt „acceptabili” în sensul că sunt compatibili cu celelalte ingrediente ale compoziției farmaceutice și nu sunt dăunători destinatarului acestora.

60 De obicei, pentru administrare terapeutică orală, un compus din prezentele învățături poate fi incorporat cu excipient și utilizat sub formă de tablete ingerabile, tablete bucale, drajeuri, capsule, elixiruri, suspensii, siropuri, capsule și altele asemenea.

De obicei pentru administrare parenterală, soluțiile unui compus din prezentele învățături pot fi preparate în general în apă amestecată corespunzător cu un surfactant, cum ar fi hidroxipropilceluloză. Dispersiile pot fi, de asemenea, preparate în glicerol, polietilen glicoli lichizi, DMSO și amestecuri ale acestora cu sau fără alcool și în uleiuri. În condiții obișnuite de depozitare și utilizare, aceste preparate conțin un conservant pentru a preveni creșterea microorganismelor.

De obicei, pentru utilizare injectabilă, sunt adecvate soluțiile apoase sterile sau dispersia și pulberile sterile ale unui compus descris aici pentru prepararea extemporană a soluțiilor sau dispersiilor sterile injectabile.

Pentru administrarea nazală, compușii din prezentele învățături pot fi formulați ca aerosoli, picături, geluri și pulberi. Formulările cu aerosoli cuprind de obicei o soluție sau o suspensie fină a substanței active într-un solvent apos sau neapos acceptabil din punct de vedere fiziologic și sunt prezentate de obicei în cantități unice sau multi-doză în formă sterilă într-un recipient sigilat, care poate lua forma unui cartuș sau rezervă pentru a fi utilizat cu un dispozitiv de atomizare. Alternativ, recipientul sigilat poate fi un dispozitiv de distribuire unitar, cum ar fi un inhalator nazal cu doză unică sau un dozator de aerosoli echipat cu o supapă de dozare care este destinată eliminării după utilizare. În cazul în care forma de dozare cuprinde un dozator de aerosoli, acesta va conține un propulsor care poate fi un gaz comprimat, cum ar fi aerul comprimat sau un propulsor organic, cum ar fi fluorclorhidrocarbură. Formele de dozare cu aerosoli pot lua, de asemenea, forma unui atomizor-pompă.

Pentru administrare bucală sau sublinguală, compușii din prezentele învățături pot fi formulați cu un purtător precum zahăr, acacia, tragacant sau gelatină și glicerină, sub formă de tablete, drajeuri sau pastile.

Pentru administrare rectală, compușii descriși aici pot fi formulați sub formă de supozitoare care conțin o bază convențională de supozitoare, cum ar fi untul de cacao.

Compușii conform invenției pot fi preparați prin metode cunoscute specialiștilor în domeniu, așa cum este ilustrat de schemele și procedurile generale de mai jos și de exemplele pregătitoare care urmează. Toate materiile prime sunt fie disponibile comercial, fie preparate prin metode cunoscute de specialiștii în domeniu și procedurile descrise mai jos.

Abordări sintetice generale ale compușilor revendicați sunt furnizate în exemplificarea de mai jos, așa cum este ilustrat în Schemele 1 și 2.

EXEMPLIFICARE

Compușii care nu intră sub incidența revendicărilor trebuie să fie considerați doar compuși de referință.

Exemplul A: Sinteză Metode Generale

Materiile prime, reactivii și solvenții disponibili comercial au fost folosiți așa cum au fost primiți. În general, reacțiile anhidre au fost efectuate într-o atmosferă inertă, cum ar fi azotul sau argonul. PoraPak® Rxn CX se referă la o rășină comercială de schimb de cationi disponibilă de la Waters.

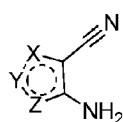
Reacțiile cu microunde au fost efectuate cu un reactor cu microunde Biotage Initiator. Progresul reacției a fost, în general, monitorizat prin LCMS (Bruker Exquire 4000 sau Waters Acquity UPLC system). Purificarea cromatografică rapidă pe coloană a intermediarilor sau a produselor finale a fost efectuată utilizând un Biotage Isolera cu cartușe de silice KP-SIL sau HP-SIL, sau silice modificată de bază KP-NH și eșantioane corespunzătoare. Purificarea HPLC cu fază inversă a fost efectuată pe un sistem VLC PrepStar model SD-1 HPLC cu o coloană Varian Monochrom 10μ C-18 cu fază inversă utilizând un gradient de 10% MeOH/0,05% TFA-H₂O până la 90% MeOH/0,05 % TFA în H₂O pe o perioadă de 40 min, la un debit de 40 ml/min. Purificarea în faza inversă a fost efectuată, de asemenea, folosind un Isolera Biotage echipat cu o coloană KP-C18-H utilizând o între 10-95% MeOH sau CH₃CN/0,1% TFA în H₂O. RMN-urile cu protoni au fost înregistrate pe un spectrometru Bruker 400 MHz, iar spectrele de masă au fost obținute utilizând un spectrometru Bruker Esquire 4000 sau un sistem UPLC Waters Acquity.

Numele compușilor au fost generate folosind software-ul incorporat în CambridgeSoft-PerkinElmer's ChemBioDraw Ultra versiunea 12.0.

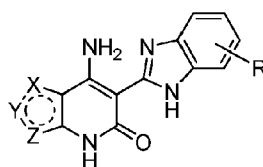
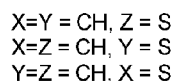
Abrevieri:

aq	apos
anh	anhidru
Ar	argon
Boc	<i>tert</i> -butoxicarbonil
br.	broad

	calcd	calculat pentru
	d	dublet (numai atunci cand este utilizat in spectrele 1H RMN)
	DCM	diclormetan
	de	exces diastereomeric
5	DIPEA	diizopropiletilamină
	DMF	N,N-dimetilformamidă
	DMSO	dimetilsulfoxid
	dppf	1,1'-bis(difenilfosfino)ferocen
	echiv	echivalent
10	Flt3	tirozin kinaza legată de fms 3
	h	oră
	HPK1	progenitor kinază hematopoietică 1
	HPLC	cromatografie lichidă de înaltă performanță
	IPA	izopropanol
15	KHMDS	hexametildisilazidă de potasiu
	Lck	proteină tirozin kinază specifică limfocitelor
	LC-MS	cromatografie lichidă cuplată cu spectrometrie de masă
	LDA	diizopropilamidă de litiu
	LiHMDS	hexametildisilazidă de litiu
20	min	minut
	m	multiplet
	MeCN	acetonitril
	MS ESI	spectre de masă, ionizare cu electrospray
	RMN	rezonanță magnetică nucleară
25	PE	peste noapte
	PMB	para-metoxibenzil
	prep	preparativ
	tc	temperatura camerei
	Rt	timp de retenție
30	RP	fază inversă
	s	singlet
	satd	saturat
	t	triplet
	temp.	temperatură
35	TFA	acid trifluoracetic
	THF	tetrahidrofuran

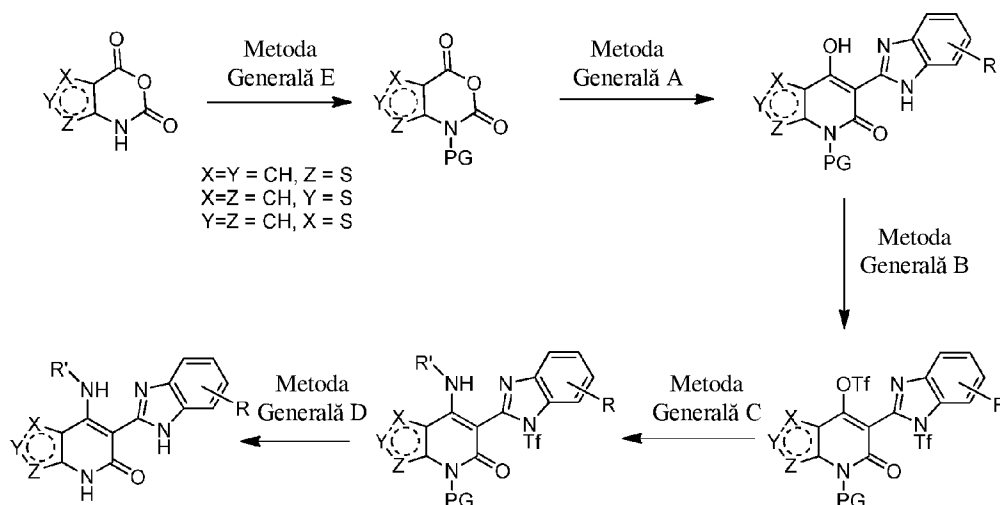


Metoda Generală A



Scheme 1

Schema 1



Schema 2

Pregătirea Materiilor Prime**Metoda Generală A1 (Ciclizarea indusă de bază folosind ester benzimidazol)**

O soluție de aril oxazin-2,4-dionă (1 echiv), sau aminoaril nitril și 1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat substituit (1-1,2 echiv) în THF a fost tratată cu KHMDS, LiHMDS sau LDA (3-5 echiv). Reacția a fost agitată la 45 °C timp de 4-24 ore. Reacția a fost apoi răcită la tc și stinsă cu soluție apoasă saturată de NH₄Cl. Stratul apos a fost extras cu EtOAc sau DCM, și extractele organice combinate au fost uscate pe MgSO₄, filtrate și concentrate. Produsul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană sau prep-HPLC pentru a da produsul dorit.

Metoda Generală A2 (Ciclizare în două etape, indusă de bază utilizând ester benzimidazol)

O soluție de aril oxazin-2,4-dionă (1 echiv), sau aminoaril nitril și 1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat substituit (1-1,2 echiv) în a fost tratată cu KHMDS, LiHMDS, KOBu^t sau LDA (3-5 echiv) la 45 °C timp de 2-4 ore. Reacția a fost apoi răcită la tc și stinsă cu soluție apoasă saturată de NH₄Cl. Stratul apos a fost extras cu EtOAc sau DCM, și extractele organice combinate au fost uscate pe MgSO₄, filtrate și concentrate. Aductul de adiție neciclizat a fost separat prin cromatografie pe coloană, dizolvat în THF și tratat cu KHMDS, LiHMDS sau LDA (3-5 echiv). Reacția a fost agitată la 45 °C timp de 1-4 ore. Reacția a fost apoi răcită la tc și stinsă cu soluție apoasă saturată de NH₄Cl. Stratul apos a fost extras cu EtOAc sau DCM, și extractele organice combinate au fost uscate pe MgSO₄, filtrate și concentrate. Produsul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană sau prep-HPLC pentru a da produsul dorit.

Metoda Generală A3 (Ciclizare în două etape, indusă de bază de ester benzimidazol)

O soluție de aminoaril nitril și 1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat substituit (1 echiv) în THF a fost tratată cu LiHMDS sau LDA (5 echiv) (etapa 1). Reacția a fost agitată la 35-40 °C timp de 1-1,5 ore. Reacția a fost apoi răcită la tc și stinsă cu soluție apoasă saturată de NH₄Cl și concentrată. Produsul brut a fost purificat prin prep-HPLC pentru a da intermediarul neciclizat care a fost neutralizat, uscat și supus condițiilor descrise în metoda generală A1 utilizând LiHMDS (etapa 2).

Metoda Generală B (formarea triflatului)

O soluție de benzimidazol-2-il arilpiridinonă derivată (1 echiv) și piridină (20 echiv) în DCM a fost tratată cu Tf₂O (8 echiv). Reacția a fost agitată la 0 °C timp de 2-8 ore. Reacția a fost apoi stinsă cu soluție apoasă saturată de NaHCO₃. Stratul apos a fost extras cu DCM, iar extractele organice combinate au fost uscate pe MgSO₄, filtrate și concentrate. Produsul brut a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară.

Metoda Generală C (substituție de amină)

O soluție de benzoimidazol-2-il arilpiridinonă bistriflat derivată (1 echiv) în MeCN, DCM sau DMF a fost tratată cu amină (1,2-3 echiv). În cazul în care amina este o sare (*de exemplu*, HCl), sarea de amină a fost dizolvată în MeOH sau DMF și trecută printr-o coloană de schimb ionic PoraPak Rxn CX pentru a rezulta bază liberă care a fost adăugată la amestecul de reacție. Amestecul de reacție a fost agitat la tc sau până la 45 °C timp de 1-48 ore. Solventul a fost îndepărtat și produsul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană sau prep-HPLC pentru a da produsul dorit.

Metoda Generală D (Deprotejare globală)

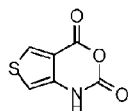
O soluție de benzoimidazol-2-il arilpiridinonă derivată protejat (1 echiv.) în TFA/HCl conc. (7:1 v/v) a fost încălzită la 80-100 °C timp de 3-24 ore. Solventul a fost îndepărtat și produsul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (bază liberă) sau prep-HPLC (sare TFA) pentru a da produsul dorit. Pentru a genera produsul dorit sub formă de sare HCl, bază liberă a fost dizolvată în MeOH și 1 M HCl-Et₂O (2-4 echiv) a fost adăugat la tc. Soluția a fost agitată timp de 5 minute și azeotropată de două ori cu MeOH.

Metoda Generală E (protecție PMB)

S-a agitat o soluție de anhidridă ftaloică (1 echiv), 1-(clormetil)-4-metoxibenzen (1-1,2 echiv), K₂CO₃ (1-1,2 echiv) și/sau KI (1-1,2 echiv) în DMF la tc timp de 4-24 ore. Amestecul de reacție a fost adăugat apoi lent la H₂O, precipitatul a fost colectat prin filtrare in vid pentru a obține produsul dorit.

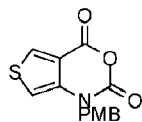
Intermediari:

1H-tieno[3,4-d][1,3]oxazin-2,4-dionă



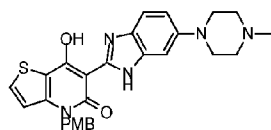
La o soluție de acid 4-terț-butoxicarbonilamino-tiofen-3-carboxilic (2,5 g, 10,2 mmol) în PhMe (25 ml) s-a adăugat clorură de oxalil (1,29 ml, 15,3 mmol) la tc. Amestecul de reacție a fost încălzit treptat la 95 °C și agitat la 95 °C timp de 1 oră. După finalizarea reacției, reacția a fost răcită la tc și filtrată. Solidul a fost spălat cu hexani (2 x 5 ml) și uscat sub vid pentru a da compusul din titlu sub formă de solid crem (1,61 g, 93%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,57 (s, 1H), 8,64 (d, J=3,2 Hz, 1H), 6,89 (d, J=2,8 Hz, 1H); MS ESI [M + H]⁺ 170,0, calculat pentru [C₆H₃NO₃S + H]⁺ 169,9.

1-(4-metoxibenzil)-1H-tieno[3,4-d][1,3]oxazin-2,4-dionă



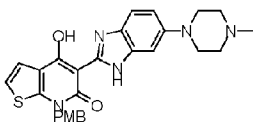
Conform metodei generale E, la o soluție de 1H-tieno[3,4-d][1,3]oxazin-2,4-dionă (1,6 g, 9,45 mmol) în DMF anh (20 ml), K₂CO₃ (1,56 g, 11,3 mmol) s-a adăugat urmat de KI (0,62 g, 3,78 mmol) sub agitare la tc. PMBCI (1,54 ml, 11,3 mmol) a fost adăugat prin picurare timp de 10 minute și amestecul de reacție a fost agitat timp de încă 2 ore. După terminarea reacției, amestecul de reacție a fost turnat în H₂O (200 ml) pentru a precipita produsul care a fost filtrat, spălat cu H₂O și uscat pentru a produce compusul din titlu sub forma unui solid aproape alb (2,3 g, 84%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,35 (d, J=3,2 Hz, 1H), 7,31 (d, J=8,8 Hz, 2H), 6,89 (d, J=8,8 Hz, 2H), 6,62 (d, J=3,2 Hz, 1H), 5,08 (s, 2H), 3,80 (s, 3H); MS ESI [M+H]⁺ 291,2, calculat pentru [C₁₄H₁₁NO₄S+H]⁺ 290,0.

7-hidroxi-4-(4-metoxibenzil)-6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă



Conform metodei generale A1, la o soluție de 1-(4-metoxibenzil)-1H-tieno[3,2-d][1,3]oxazină-2,4-dionă [Tetrahedron (1999) 55 6167-6174] (2,89 g, 10 mmol), 2-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil [J.Med.Chem. (2009), 52, 278-292] (3,02 g, 10 mmol), LiHMDS (1 M în THF, 4 ml, 4 mmol) au fost utilizate pentru a genera compusul din titlu ca un solid portocaliu (2,65 g, 51%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 13,68 (br.s., 1H), 12,57 (s, 1H), 7,55 (dd, J=5,2, 2,0 Hz, 1H), 7,40-7,32 (m, 1H), 7,23 (d, J=8,8 Hz, 2H), 7,04-6,93 (m, 3H), 6,85 (d, J=8,8 Hz, 2H), 5,37 (s, 2H), 3,77 (s, 3H), 3,30-3,19 (m, 4H), 2,69-2,58 (m, 4H), 2,39 (s, 3H); MS ESI [M+H]⁺ 502,1, calculat pentru [C₂₇H₂₇N₅O₃S+H]⁺ 502,2.

4-hidroxi-7-(4-metoxibenzil)-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă

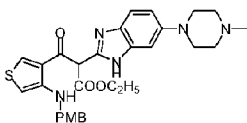


- 5 Conform metodei generale A2, o soluție de 1-(4-metoxibenzil)-1H-tieno[2,3-d][1,3]oxazin-2,4-dionă (0,40 g, 1,4 mmol), 2-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (0,46 g, 1,5 mmol) și LDA (1 M în THF, 6,2 ml, 4,5 mmol) au fost utilizate pentru a genera compusul din titlu ca un solid maro (0,220 g, 32%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 13,87 (br.s., 1H), 12,52 (s, 1H), 7,49 (dd, *J* = 14,9 Hz, 1H), 7,40-7,24 (m, 3H), 7,03-6,64 (m, 5H), 5,28 (d, *J* = 13,8 Hz, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,21 (d, *J* = 18,8 Hz, 4H), 2,65 (m, d, *J* = 19,1 Hz, 4H), 2,41 (s, 3H); MS ESI [M+H]⁺ 502,3, calculat pentru [C₂₇H₂₇N₅O₃S+H]⁺ 502,2.

7-hidroxi-4-(4-metoxibenzil)-6-(6-morfolino-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă		325 mg (48%) solid maro; bază liberă
Reactivi (Metoda Generală A1): 1-(4-metoxibenzil)-1H-tieno[3,2-d][1,3]oxazină-2,4-dionă [Tetrahedron (1999) 55 6167-6174] (0,4 g, 1,4 mmol), 2-(6-morfolino-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil [J.Med.Chem. (2009), 52, 278-292] (0,4 g, 1,4 mmol), LiHMDS (5,5 ml, 5,5 mmol)		
¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ 13.73-13.60 (m, 1H), 12.64-12.52 (m, 1H), 7,54 (d, <i>J</i> =5,3 Hz, 1H), 7,42-7,29 (m, 2H), 7,21 (d, <i>J</i> =7,8 Hz, 2H), 7,03-6,89 (m, 2H), 6,85 (d, <i>J</i> =9,0 Hz, 2H), 5,37 (br. s, 2H), 3,83-3,98 (m, 4H), 3,77 (s, 3H), 3,23-3,09 (m, 4H); MS ESI [M+H] ⁺ 489,2, calculat pentru [C ₂₆ H ₂₄ N ₄ O ₄ S+ H] ⁺ 489,2.		
4-hidroxi-7-(4-metoxibenzil)-5-(6-morfolino-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		445 mg (24%) solid maro; Bază liberă
Reactivi (Metoda Generală A1): 1-(4-metoxibenzil)-1H-tieno[2,3-d][1,3]oxazin-2,4-dionă (0,40 g, 1,4 mmol), 2-(6-morfolino-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (0,4 g, 1,4 mmol), LDA (17 ml, 17 mmol). MS ESI [M+H] ⁺ 489,2, calculat pentru [C ₂₆ H ₂₄ N ₄ O ₄ S+ H] ⁺ 489,1.		

10

3-(4-((4-metoxibenzil)amino)tiofen-3-il)-2-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo [d]imidazol-2-il)-3-oxopropanoat de etil

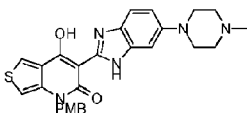


15

- La o soluție de 2-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (2,58 g, 8,55 mmol) și 1-(4-metoxi benzil)-1H-tieno[3,4-d][1,3]oxazin-2,4-dionă (2,46 g, 8,55 mmol) în THF anh (48 ml), LDA 1 M (34 ml, 1 M în THF/hexan, 34 mmol) a fost adăugat prin picurare la 40 °C sub Ar. Soluția brună rezultată a fost agitată la 40 °C timp de 1 oră și apoi a fost stins cu soluție apoasă saturată de NH₄Cl (50 ml) la tc. Amestecul de reacție a fost diluat cu H₂O (50 ml) și s-a extras cu DCM (2 x 200 ml). Straturile organice combinate au fost spălate o dată cu H₂O, uscate pe Na₂SO₄ și concentrate pentru a da esterul brut. Produsul brut a fost purificat prin cromatografie rapidă (gradient: EtOAc/hex 0-40%, urmat de MeOH/DCM 0-25%) pentru a da compusul din titlu ca un solid maro deschis (3,05 g, 65%). MS ESI [M+H]⁺ 548,2, calculat pentru [C₂₉H₃₃N₅O₄S+ H]⁺ 548,2.

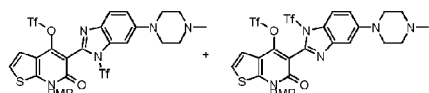
20

- 25 4-hidroxi-1-(4-metoxibenzil)-3-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,4-b]piridin-2(1H)-onă



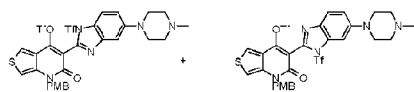
3-(4-((4-metoxibenzil)amino)tiofen-3-il)-2-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-3-oxopropanoat de etil (3,05 g, 5,57 mmol), descris mai sus, a fost dizolvat în THF anh (30 ml) la tc sub Ar. O soluție de LDA (16,8 ml, 1 M în THF/hexan, 16,71 mmol) a fost adăugată prin picurare la 40 °C. Soluția brună rezultată a fost agitată la 40 °C timp de 1 oră și apoi a fost stinsă cu soluție apoasă saturată de NH₄Cl (25 ml) la tc. Amestecul s-a diluat cu H₂O (25 ml) și s-a extras cu DCM (2 x 250 ml). Straturile organice combinate au fost spălate o dată cu H₂O, uscate pe Na₂SO₄ și concentrate pentru a da produsul brut. Produsul brut a fost purificat prin cromatografie rapidă (gradient: MeOH/DCM 0-20%) pentru a da compusul din titlu ca un solid maro deschis (1,81 g, 65%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,8-13,25 (m, 1H), 8,13 (d, J=3,6 Hz, 1H), 7,58 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,36-7,29 (m, 3H), 7,06-7,02 (m, 1H), 6,97 (d, J=3,6 Hz, 1H), 6,86 (d, J=8,4 Hz, 2H), 5,19 (s, 2H), 3,69 (s, 3H), 3,16 (br.s, 4H), 2,60 (br.s, 4H), 2,31 (s, 3H); un semnal datorat grupului OH nu poate fi detectat cu ușurință. MS ESI 502,1 [M+H]⁺, calculat pentru [C₂₇H₂₇N₅O₃S+ H]⁺ 502,2.

trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6)-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il



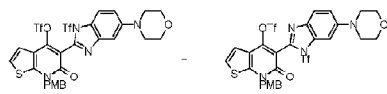
Sintetizat conform metodei generale B utilizând 4-hidroxi-7-(4-metoxibenzil)-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă (0,22 g, 0,44 mmol), Tf₂O (0,60 ml, 3,5 mmoli) și piridină (0,72 ml, 8,8 mmoli). Compușii din titlu obținuți ca un amestec nedeterminat de regioizomeri, au fost utilizați în etapa următoare fără purificare. MS ESI [M+H]⁺ 766,1, calculat pentru [C₂₉H₂₅F₆N₅O₇S₃+ H]⁺ 766,1.

trifluormetansulfonat de 1-(4-metoxibenzil)-3-(5 și/sau 6)-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-oxo-1,2-dihidrotieno[3,4-b]piridin-4-il



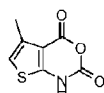
Conform metodei generale B, o soluție de 4-hidroxi-1-(4-metoxibenzil)-3-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,4-b]piridin-2(1H)-onă (220 mg, 0,43 mmol) și piridină (708 ml, 8,76 mmol) în DCM (12 ml) s-a adăugat Tf₂O (558 ml, 3,50 mmoli) la -5 °C. Reacția a fost agitată între -5 și 0 °C timp de 1 oră. Reacția a fost stinsă cu soluție apoasă saturată de NaHCO₃. Stratul apos a fost extras cu DCM, iar extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ și concentrate sub vid pentru a da un ulei maro închis. Produsul brut, obținut ca un amestec nedeterminat de regioizomeri, a fost utilizat direct în etapa următoare fără purificare ulterioară. MS ESI [M+H]⁺ 766,0, calculat pentru [C₂₉H₂₅F₆N₅O₇S₃+ H]⁺ 766,1.

trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6)-morfolino-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il



Conform metodei generale B, o soluție de 4-hidroxi-7-(4-metoxibenzil)-5-(6-morfolino-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-teno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă (200 mg, 0,41 mmol) și piridină (0,66 ml, 8,2 mmol) în DCM (20 ml) s-a adăugat Tf₂O (0,55 ml, 3,28 mmol) la 0 °C. Amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de 2 ore și apoi a fost stins cu soluție apoasă saturată de NaHCO₃. Stratul apos a fost extras cu DCM. Extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ și concentrate pentru a da compusul brut din titlu (amestec de doi regioizomeri) sub formă de ulei brun care a fost utilizat direct în etapa următoare fără purificare suplimentară luând în considerare randamentul cantitativ. MS ESI [M+H]⁺ 753,0, calculat pentru [C₂₈H₂₂F₆N₄O₈S₃+ H]⁺ 752,9.

5-metil-1H-tieno[2,3-d][1,3]oxazin-2,4-dionă



La o soluție de KOH (0,49 g, 8,76 mmol) în H₂O a fost adăugat (20 ml) 2-amino-4-metil-3-tiofen-carboxilat de metil (1,0 g, 5,84 mmoli) la tc. Reacția rezultată a fost încălzită la 90 °C timp de 2 ore și apoi răcită la 0 °C. O soluție de trifosgen (0,866 g, 2,92 mmol) în PhMe (12 ml) a fost adăugată prin picurare timp de 10 minute. Soluția rezultată a fost încălzită treptat la tc și

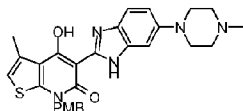
agitată timp de 2 ore. Solidul rezultat a fost filtrat, spălat cu H₂O și uscat pentru a produce compusul din titlu sub forma unui solid roz (0,65 g, 61%). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 6,65 (d, J=1,2 Hz, 1H), 2,42 (d, J=1,2 Hz, 3H); MS ESI [M+H]⁺ 184,0, calculat pentru [C₇H₅NO₃S+H]⁺ 184,0.

5 1-(4-metoxibenzil)-5-metil-1H-tieno[2,3-d][1,3]oxazin-2,4-dionă



10 La o soluție de 5-metil-1H-tieno[2,3-d][1,3]oxazină-2,4-dionă (0,625 g, 3,41 mmol) în DMF anh (9 ml), K₂CO₃ (S-au adăugat 0,566 g, 4,09 mmol) urmat de KI (0,142 g, 0,85 mmol) sub agitare la tc. PMB-Cl (0,56 ml, 4,06 mmol) a fost adăugat prin picurare la reacție timp de 10 minute și agitat timp de încă 2 ore. Amestecul de reacție a fost turnat în H₂O (100 ml) pentru a precipita produsul care a fost filtrat, spălat cu H₂O și uscat pentru a produce compusul din titlu sub forma unui solid maro deschis (0,935 g, 91%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,38 (d, J=8,8 Hz, 2H), 6,90-6,88 (m, 2H), 6,46 (d, J=1,2 Hz, 1H), 5,05 (s, 2H), 3,80 (s, 3H), 2,42 (d, J=1,2 Hz, 3H); MS ESI [M+H]⁺ 304,2, calculat pentru [C₁₅H₁₃NO₄S+H]⁺ 304,1.

15 4-hidroxi-7-(4-metoxibenzil)-3-metil-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă

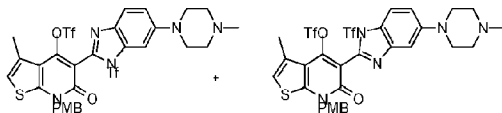


20 O soluție de LDA (34 ml, 1 M în THF/hexan, 34 mmol) a fost adăugată prin picurare la o soluție de 2-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (922 mg, 3,04 mmol) și 1-(4-metoxi benzil)-5-metil-1H-tieno[2,3-d][1,3]oxazin-2,4-dionă (925 mg, 3,04 mmol) în THF anh (28 ml) la 40 °C sub Ar. Soluția brună rezultată a fost agitată la 40 °C timp de 2 ore și apoi a fost stins cu soluție apoasă, NH₄Cl (25 ml) la tc. Amestecul de reacție a fost diluat cu H₂O (25 ml) și s-a extras cu DCM (2 x 100 ml). Straturile organice combinate au fost spălate o dată cu H₂O, uscate pe Na₂SO₄ și concentrate pentru a da un amestec de produs și esterul neciclizat. Masa brută a fost purificată prin cromatografie rapidă (gradient: EtOAc/hex 0-40%, urmată de MeOH/DCM 0-25%) pentru a da amestec de produs și ester neciclizat (900 mg).

30 Deasupra amestecului de produs și ester neciclizat (900 mg) a fost dizolvat în THF anh (9 ml) la tc sub Ar. O soluție de LDA (5 ml, 1 M în THF/hexan) a fost adăugată prin picurare la 40 °C. Soluția maro rezultată a fost agitată la 40 °C timp de 1 oră și prelucrată conform celei de mai sus pentru a da produs brut. Produsul brut a fost purificat prin cromatografie rapidă (gradient: MeOH/DCM 0-20%) pentru a da compusul din titlu ca un solid crem (325 mg, 21%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 12,54 (s, 1H), 7,38 (d, J=8,4 Hz, 1H), 7,33 (d, J=8,4 Hz, 2H), 7,01-6,98 (m, 2H), 6,85 (d, J=8,8 Hz, 2H), 6,40 (s, 1H), 5,26 (s, 2H), 3,80-3,61 (m, 6H), 3,60-3,51 (m, 4H), 2,89-2,88 (m, 4H), 2,63 (s, 3H); semnalul datorat grupului OH nu poate fi detectat cu ușurință. MS ESI [M+H]⁺ 516,2, calculat pentru [C₂₈H₂₉N₅O₃S+H]⁺ 516,2.

35 trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-3-metil-5-(5 și/sau 6)-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il

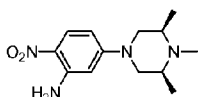
40



Compusul din titlu a fost preparat conform metodei generale B prin utilizarea 4-hidroxi-7-(4-metoxi-benzil)-3-metil-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă (320 mg, 0,62 mmol), piridină (1,0 ml, 12,4 mmoli), Tf₂O (0,833 ml, 4,96 mmol) în DCM (12 ml) pentru a da un ulei maro închis. Produsul brut, obținut ca un amestec nedeterminat de 2 regioizomeri, a fost utilizat direct în etapa următoare fără purificare ulterioară. MS ESI [M+H]⁺ 780,0, calculat pentru [C₃₀H₂₇F₆N₅O₇S₃+H]⁺ 780,1.

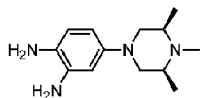
45 2-(6-(((3r,5s)-rel-3,4,5-trimetilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil A, 2-nitro-5-((3r,-5s)-rel-3,4,-5-trimetilpiperazin-1-il)anilină

50



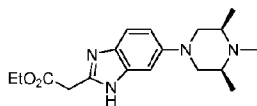
Un amestec de 5-clor-2-nitroanilină (1,73 g, 10 mmol), (3r,5s)-rel-1,2,6-trimetilpiperazină (1,41 g, 11 mmol) și K₂CO₃ (2,72 g, 20 mmol) a fost iradiat în cuptorul cu microunde la 140 °C timp de 4 ore. H₂O (150 ml) a fost apoi adăugat cu agitare, se filtrează cu aspirație, se spală cu H₂O și uscat pentru a da compusul din titlu sub forma unui solid de culoare brună (2,47 g, 94%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,79 (d, *J*=10,0 Hz, 1H), 7,23 (s, 2H, NH₂), 6,41 (dd, *J*=9,6, 1,6 Hz, 1H), 6,20 (d, *J*=2,4 Hz, 1H), 3,77 (d, *J*=12,4 Hz, 2H), 2,59 (t, *J*=11,8 Hz, 2H), 2,19-2,11 (m, 2H), 2,16 (s, 3H), 1,05 (d, *J*=6,0 Hz, 6H); MS ESI [M+H]⁺ 265,3, calculat pentru [C₁₃H₂₀N₄O₂+H]⁺ 265,2.

B. 4-((3r,5s)-rel-3,4,5-trimetilpiperazin-1-il)benzen-1,2-diamină



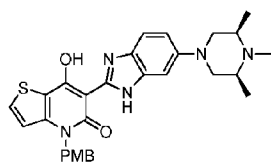
La o suspensie de 2-nitro-5-((3r,5s)-rel-3,4,5-trimetilpiperazin-1-il)anilină (2,47 g, 9,4 mmol) în MeOH (30 ml) s-a adăugat 10% Pd/C (247 mg, 10% gr.). Amestecul rezultat a fost hidrogenat sub balon de H₂ O/N. După, încă 10% Pd/C (124 mg, 5% gr.) a fost adăugat, a fost hidrogenat sub balon de H₂ O/N, filtrat, concentrat și uscat pentru a da compusul din titlu ca un solid brun închis (2,25 g, cantitativ). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 6,66 (d, *J*=8,4 Hz, 1H), 6,47 (d, *J*=2,4 Hz, 1H), 6,31 (dd, *J*=8,4, 2,8 Hz, 1H), 3,35-3,25 (m, 2H), 2,47-2,40 (m, 4H), 2,34 (s, 3H), 1,18 (d, *J*=5,6 Hz, 6H); MS ESI [M+H]⁺ 235,3, calculat pentru [C₁₃H₂₂N₄+H]⁺ 235,2.

C. 2-(6-((3r,5s)-rel-3,4,5-trimetilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil



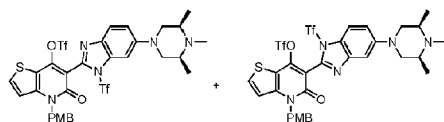
La o soluție de 4-((3r,5s)-rel-3,4,5-trimetilpiperazin-1-il)benzen-1,2-diamină (2,25 g, 9,4 mmol) în EtOH (40 ml) s-a adăugat clorhidrat de 3-etoxi-3-iminopropionat de etil (2,93 g, 15 mmol). Amestecul rezultat a fost încălzit la 80 °C timp de 2 ore. După îndepărtarea solvenților, a fost diluat cu DCM/MeOH (100 ml/10 ml), se alcalinizează cu soluție apoasă saturată de NaHCO₃ (30 ml) și se separă. Stratul apos a fost extras cu DCM (60 mLx2) și extractele combinate au fost concentrate și purificate prin cromatografie rapidă (gradient: 100% EtOAc, apoi MeOH/DCM 0-20%) pentru a da compusul din titlu ca un solid portocaliu închis (2,32 g, 73%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 10,13 (br s, 1H, NH), 7,53-6,88 (m, 3H), 4,25 (q, *J*=7,2 Hz, 2H), 4,03 (s, 2H), 3,43 (d, *J*=11,2 Hz, 2H), 2,61 (t, *J*=11,2 Hz, 2H), 2,50-2,41 (m, 2H), 2,35 (s, 3H), 1,32 (t, *J*=7,2 Hz, 3H), 1,19 (d, *J*=6,0 Hz, 6H); MS ESI [M+H]⁺ 331,3, calculat pentru [C₁₈H₂₆N₄O₂+H]⁺ 331,2.

7-hidroxi-4-(4-metoxibenzil)-6-(6-((3r,5s)-rel-3,4,5-trimetilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă



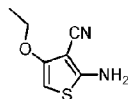
La un amestec de 1-(4-metoxibenzil)-1H-tieno[3,2-d][1,3]oxazin-2,4-dionă (1,16g, 4 mmol) și 2-(6-((3r,5s)-rel-3,4,5-trimetilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (990 mg, 3 mmol) în THF (20 ml) s-a adăugat LDA (1,0 M în THF/hex, 10 ml, 10 mmol) prin picurare la turație. După adăugare, amestecul rezultat a fost agitat la 40 °C timp de 1 oră, diluat cu DCM, stins cu soluție apoasă saturată de NH₄Cl și extras cu DCM. Extractele combinate au fost concentrate și purificate prin cromatografie rapidă (gradient: 20-100% EtOAc/hex, apoi MeOH (0,5% NH₃)/DCM 0-20%) pentru a da un amestec de produs ciclizat și neciclizat ca o spumă brună (1,10 g). Amestecul a fost redizolvat în THF (15 ml) și LDA (1,0 M în THF/hex, 6 ml, 6 mmoli) a fost adăugat prin picurare la tc. Procesul și prelucrarea au fost ambele la fel ca mai sus. Compusul din titlu a fost obținut ca un solid portocaliu (630 mg, 40%). MS ESI [M+H]⁺ 530,3, calculat pentru [C₂₉H₃₁N₅O₃S+H]⁺ 530,2.

trifluormetan sulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-5-oxo-6-(1-((trifluormetil)sulfonil)-(5 și/sau 6)-((3r,5s)-rel-3,4,5-trimetilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il



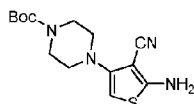
Conform metodei generale B, o soluție de 7-hidroxi-4-(4-metoxibenzil)-6-((3*r*,5*s*)-rel-3,4,5-trimetil-piperazin-1-il)-1*H*-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-*b*]piridin-5(4*H*)-onă (106 mg, 0,2 mmol) în DCM (15 ml) la 0 °C s-a adăugat piridină (0,32 ml, 4 mmol), urmat de Te_2O (0,27 ml, 1,2 mmol). Amestecul rezultat a fost agitat la 0 °C timp de 1 oră, diluat cu DCM (10 ml), se stinge cu soluție apoasă saturată de NaHCO_3 (15 ml), extras cu DCM (20 mLx2) și concentrat pentru a da compusul din titlu brut (un amestec nedeterminat de doi regioizomeri) ca un ulei maro care a fost utilizat direct în etapele ulterioare. MS ESI $[\text{M}+\text{H}]^+$ 794,1, calculat pentru $[\text{C}_{31}\text{H}_{29}\text{F}_6\text{N}_5\text{O}_7\text{S}_3+\text{H}]^+$ 794,11.

10 Sinteză 2-amino-4-etoxitiofen-3-carbonitril



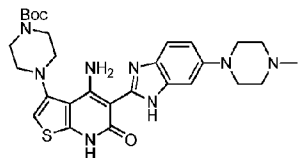
Amestecul de MeC(OMe)_3 (2,26 ml, 12,3 mmol) și $\text{CH}_2(\text{CN})_2$ (0,78 ml, 12,3 mmol) a fost agitat la 65 °C timp de 3 ore înainte de a răcit până la tc. THF (10 ml) și sulf (395 mg) au fost adăugate, urmate de adăugarea de Et_3N (1,72 ml, 12,3 mmol) prin picurare. Amestecul de reacție rezultat a fost agitat la 60 °C timp de 15 min și concentrat sub presiune redusă. Reziduul a fost împărțit între EtOAc și H_2O , extras cu EtOAc, uscat pe Na_2SO_4 , filtrat și concentrat până la uscare. Reziduul a fost triturat cu DCM și filtrat pentru a da compusul din titlu sub forma unui solid maro (1,23 g, 60%). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 5,27 (s, 1H), 3,99 (q, $J=7,0$ Hz, 2H), 1,38 (t, $J=7,0$ Hz, 3H); MS ESI $[\text{M}+\text{H}]^+$ 169,0, calculat pentru $[\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_2\text{OS}+\text{H}]^+$ 169,0.

20 4-(5-amino-4-cianotiofen-3-il)piperazin-1-carboxilat de terț-butil



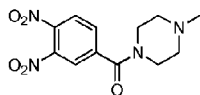
Un amestec de MeC(OMe)_3 (1,3 ml, 10 mmol) și $\text{CH}_2(\text{CN})_2$ (0,66 g, 10 mmol) a fost încălzit în flacon închis la 80 °C timp de 17 ore. Reacția a fost răcită la tc și s-a adăugat piperazin-1-carboxilat de terț-butil (2,79 g, 15,0 mmol). Încălzirea cu agitare a fost continuată la 65 °C timp de 5 ore. Amestecul de reacție a fost apoi concentrat in vacuo. S_8 (0,34 g) și THF anh (10 ml) au fost adăugate. Suspensia a fost încălzită sub agitare la 40 °C. S-a adăugat prin picurare Et_3N (1,3 ml, 9,3 mmol) timp de 15 minute. Temperatura băii de ulei a fost mărită la 60 °C și agitarea a fost continuată timp de 11 ore. Reacția a fost apoi concentrată sub presiune redusă și purificat prin cromatografie rapidă (SiO_2 , hexani:EtOAc 5-50%) pentru a se obține 4-(5-amino-4-cianotiofen-3-il)piperazin-1-carboxilat de terț-butil ca un solid portocaliu deschis (0,71 g, 23%). ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,12 (s, 2H), 5,46 (s, 1H), 3,45-3,37 (m, 4H), 2,90-2,81 (m, 4H), 1,40 (s, 9H). MS ESI $[\text{M}+\text{H}]^+$ 309,3, calculat pentru $[\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}+\text{H}]^+$ 309,1.

35 4-(4-amino-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1*H*-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-*b*]piridin-3-il)piperazin-1-carboxilat de terț-butil



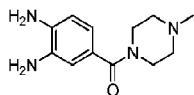
LiHMDS (1,0 M în THF, 2,8 ml, 2,8 mmol) a fost adăugat prin picurare la tc la o suspensie agitată de 2-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1*H*-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (0,170 g, 0,56 mmol) și 4-(5-amino-4-cianotiofen-3-il)piperazin-1-carboxilat de terț-butil (0,175 g, 0,56 mmol) în THF anh (10 ml) sub Ar. Reacția a fost agitată la tc timp de încă 5 min și apoi încălzită într-o baie de ulei la 40 °C timp de 1 oră. Reacția a fost răcită la tc, stins cu soluție apoasă saturată de NH_4Cl , se concentrează sub presiune redusă și purificat prin cromatografie rapidă (MeOH/DCM 0-20%) pentru a da compusul din titlu sub forma unui solid cafeniu deschis (83 mg, 26%). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,45 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 7,10 (d, $J=2,3$ Hz, 1H), 7,03 (dd, $J=8,8$, 2,3 Hz, 1H), 6,18 (s, 1H), 3,62-3,50 (m, 4H), 3,24-3,18 (m, 4H), 3,05-2,98 (m, 4H), 2,75-2,67 (m, 4H), 2,41 (s, 3H), 1,49 (s, 9H); MS ESI $[\text{M}+\text{H}]^+$ 565,3, calculat pentru $[\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_8\text{O}_3\text{S}+\text{H}]^+$ 565,4.

2-(6-(4-metilpiperazin-1-carbonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil A. (3,4-Dinitrofenil)(4-metilpiperazin-1-il)metanonă



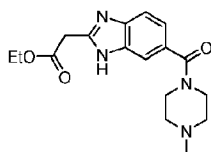
5 La o suspensie de acid 3,4-dinitrobenzoic (1,23 g, 5,8 mmol) in DCM anh (20 ml) la tc s-a adăugat prin picurare clorură de oxalil (1,0 ml, 11,7 mmoli) urmată de DMF anh (2 picături). Reacția a fost agitată peste noapte și apoi concentrată la tc. Reziduul a fost dizolvat în THF anh (40 ml) la 0 °C sub Ar. 1-metilpiperazină (1,3 ml, 11,7 mmol) s-a adăugat prin picurare (suspensia albă groasă a fost agitată cu agitare intermitentă). După adăugare, răcirea a fost continuată timp de 10 minute înainte ca baia de răcire să fie îndepărtată. După agitarea amestecului de reacție la tc timp de 3 ore, s-a adăugat H₂O. THF a fost îndepărtat sub presiune redusă și reziduul apos a fost extras (CH₂Cl₂; 2% MeOH in CH₂Cl₂. 2x). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ și concentrat sub presiune redusă pentru a se obține (3,4-dinitrofenil)(4-metilpiperazin-1-il)metanonă ca un solid de culoare portocaliu deschis (1,77 g, quant). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,29 (d, J=8,3 Hz, 1H), 8,27 (d, J=1,5 Hz, 1H), 7,97 (dd, J=8,3, 1,8 Hz, 1H), 3,59-3,68 (m, 2H), 3,24-2,53 (m, 2H), 2,42-2,35 (m, 2H), 2,21-2,32 (m, 2H), 2,20 (s, 3H). MS ESI [M+H]⁺ 295,2, calculat pentru [C₁₂H₁₄N₄O₅+ H]⁺ 295,1.

B. (3, 4-Diaminofenil)(4-metilpiperazin-1-il)metanonă



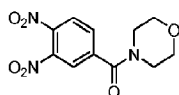
20 O soluție de (3,4-dinitrofenil)(4-metilpiperazin-1-il)metanonă (0,53 g, 1,8 mmol) în THF (25 ml) și EtOH (50 ml) a fost degazat cu N₂. S-a adăugat Pd/C (191 mg, 0,18 mmol) și reacția a fost agitată sub H₂ (1 atm) peste noapte la tc. Amestecul de reacție a fost apoi filtrat prin Celite și concentrat sub presiune redusă pentru a da (3,4-diaminofenil)(4-metilpiperazin-1-il)metanonă sub forma unui solid purpuriu (0,44 g, cant). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 6,61-6,55 (m, 1H), 6,47-6,45 (m, 2H), 4,81 (br. s, 2H), 4,58 (br. s, 2H), 3,50 -3,39 (m, 4H), 2,34-2,22 (m, 4H), 2,18 (s, 3H). MS ESI [M+H]⁺ 235,1, calculat pentru [C₁₂H₁₈N₄O+ H]⁺ 235,1.

C. 2-(6-(4-metilpiperazin-1-carbonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil



30 (3,4-Diaminofenil)(4-metilpiperazin-1-il)metanonă (0,44 g, 1,8 mmol) și clorhidrat de acid 3-etoxi-3-iminopropanoic (1,07 g, 5,5 mmol) în EtOH anh (100 ml) sub Ar au fost încălzite cu agitare peste noapte la 65 °C. Amestecul de reacție a fost apoi concentrat sub presiune redusă. Reziduul a fost preluat în H₂O (15 ml), se neutralizează cu soluție apoasă 10% Na₂CO₃, extras cu CH₂Cl₂ (2x), spălat (soluție salină) și uscat pe Na₂SO₄. Purificarea prin cromatografie rapidă (0-50% MeOH in CH₂Cl₂), se obține compusul din titlu sub formă de spumă de culoare galbenă (0,31 g, 52%). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,71-7,57 (m, 2H), 7,33 (d, J=8,2 Hz, 1H), 4,23 (q, J=7,2 Hz, 2H), 3,91-3,40 (m, 4H), 2,62-2,38 (m, 4H), 2,34 (s, 3H), 1,28 (t, J=7,1 Hz, 3H); Semnale datorate CH₂-ester sunt absente în CD₃OD. MS ESI [M+H]⁺ 331,2, calculat pentru [C₁₇H₂₂N₄O₃+H]⁺ 331,2.

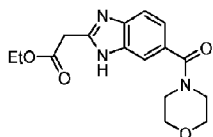
2-(6-(morfolin-4-carbonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil A. (3,4-dinitrofenil)(morfolino)metanonă



45 La o suspensie de acid 3,4-dinitrobenzoic (1,30 g, 6,1 mmol) in DCM anh (50 ml) la tc s-a adăugat prin picurare (COCl)₂ (1,0 ml, 11,7 mmol) urmat de DMF anh (2 picături). Reacția a fost agitată peste noapte și apoi concentrată la tc. Reziduul a fost dizolvat în THF anh (24 ml) la 0 °C sub Ar. s-a adăugat morfolină (1,0 ml, 11,6 mmol) prin picurare (suspensie albă groasă a fost agitată cu agitare intermitentă). După adăugare, răcirea a fost continuată timp de 10 minute înainte ca baia de răcire să fie îndepărtată. După agitarea amestecului de reacție la tc timp de 3 ore, s-a adăugat H₂O. THF a fost îndepărtat sub presiune redusă și reziduul apos a fost extras (CH₂Cl₂. 2x).

Extracțele organice combinate au fost uscate (Na_2SO_4) și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține (3,4-dinitrofenil)(morfolino) metanonă ca solid portocaliu aprins (1,8 g, cuant). ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,28 - 8,31 (m, 2 H), 8,00 (dd, $J=8,28$, 1,76 Hz, 1H), 3,39 - 3,80 (m, 8 H).
 B. 2-(6-(morfolin-4-carbonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil

5

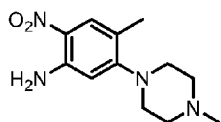


O soluție de (3,4-dinitrofenil)(morfolino)metanonă (0,83 g, 2,9 mmol) în THF (30 ml) și EtOH (60 ml) a fost degazată cu N_2 . S-a adăugat Pd/C (0,31 mg, 0,29 mmol) și reacția a fost agitată sub H_2 (1 atm) peste noapte la tc. Amestecul de reacție a fost apoi filtrat prin Celite și concentrat sub presiune redusă pentru a da (3,4-diaminofenil)(morfolino) metanonă sub formă de spumă purpurie. LCMS (ESI) m/z calculat pentru $[\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2 + \text{H}]^+$ 222,1; găsit 222,2. Materialul și clorhidrat 3-etoxi-3-iminopropanoat de etil (1,2 g, 6,2 mmol) în EtOH anh (100 ml) sub Ar au fost încălzite cu agitare peste noapte la 65 °C. Amestecul de reacție a fost apoi concentrat sub presiune redusă. Purificarea prin cromatografie rapidă (0-20% MeOH în CH_2Cl_2) a dat compusul din titlu ca o spumă roșu pal (0,43 g, 47%). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,52 - 7,76 (m, 2 H), 7,33 (dd, $J=8,28$, 1,51 Hz, 1H), 4,22 (q, $J=7,19$ Hz, 2 H), 4,00 - 4,05 (m, 2 H), 3,70 (br. s., 8 H), 1,28 (t, $J=7,15$ Hz, 3 H); Semnale datorate CH_2 -ester sunt absente în CD_3OD ; MS ESI $[\text{M} + \text{H}]^+$ 318,2, calculat pentru $[\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_3 + \text{H}]^+$ 318,1.

15

20

2-(5-metil-6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil A. 4-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-2-nitroanilină

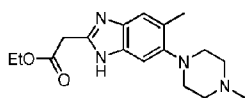


5-clor-4-metil-2-nitroanilină (0,32 g, 1,7 mmol) și 1-metilpiperazină (1,5 ml, 13,5 mmol) au fost încălzite într-un tub sigilat la 80 °C timp de 30 min, urmat de la 105 °C timp de 1 zi și 120 °C timp de 2 zile. Reacția a fost apoi răcită, diluată cu H_2O și filtrată. Solidul colectat a fost clătit cu H_2O și uscat in vid pentru a se obține compusul din titlu A sub formă de solid de culoare galbenă (0,36 g, 84%). ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,72 (s, 1H), 7,27 (s, 2 H), 6,44 (s, 1H), 2,97-2,86 (m 4 H), 2,49-2,39 (m, 4 H), 2,22 (s, 3 H), 2,11 (s, 3 H). LCMS (ESI) m/z calculat pentru $[\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2 + \text{H}]^+$ 251,1; găsit 251,3.

25

30

B. 2-(5-metil-6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil



4-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-2-nitroanilină (0,36 g, 1,4 mmol) și Pd/C (10%, 81 mg, 0,08 mmol) în EtOH (50 ml), THF (25 ml) au fost degazate cu N_2 și apoi agitate sub H_2 (1 atm) timp de 5 zile. Amestecul de reacție a fost filtrat prin Celite, tamponul a fost clătit cu EtOH. Filtratul a fost concentrat sub presiune redusă pentru a se obține 4-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)benzen-1,2-diamină sub forma unui solid galben de culoare cafenie (0,35 g, cant). Materialul (0,35 g) și clorhidrat 3-etoxi-3-iminopropanoat de etil (0,81 g, 4,1 mmol) în EtOH anh (70 ml) sub Ar s-au încălzit cu agitare peste noapte la 65 °C. Amestecul de reacție a fost apoi concentrat sub presiune redusă, preluat în H_2O (20 ml) și se alcalinizează cu soluție apoasă Na_2CO_3 2 M până la pH 9. Amestecul a fost extras cu DCM (2x); extracțele organice au fost uscate (Na_2SO_4) și concentrate sub presiune redusă. Purificarea prin cromatografie rapidă (0-30% MeOH în CH_2Cl_2), se obține compusul din titlu sub forma unei spume galbene (0,36g, 82%). ^1H RMN (500 MHz, CD_3OD) δ 7,35 (s, 1H), 7,25 (s, 1H), 4,22 (q, $J=7,09$ Hz, 2 H), 2,95 - 3,03 (m, 4 H), 2,88-2,58 (m, 4 H), 2,43 (s, 3 H), 2,41 (s, 3 H), 1,28 (t, $J=7,09$ Hz, 3 H); Semnale datorate CH_2 -ester sunt absente în CD_3OD ; LCMS (ESI) m/z calculat pentru $[\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_2 + \text{H}]^+$ 317,2; găsit 317,3.

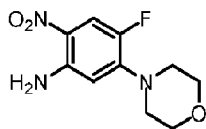
35

40

45

2-(5-fluor-6-morfolino-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil

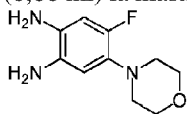
A. 4-fluor-5-morfolino-2-nitroanilină



Un amestec de 5-clor-4-fluor-2-nitroanilină (1,0 g, 5,24 mmol), morfolină (1,37 ml, 15,7 mmol) și DMSO (5 ml) a fost încălzit în baie de ulei 140 °C timp de 3 ore. Apoi, H₂O (50 ml) s-a adăugat cu agitare la temperatura de 80 °C pentru a precipita produsul și a permis suspensia la tc, filtrat prin aspirație, spălat cu H₂O și uscat pentru a da compusul din titlu sub forma unui solid galben (1,25 g, 94%). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,17 (d, *J*=14,0 Hz, 1H), 6,37 (d, *J*=8,0 Hz, 1H), 3,83 (t, *J*=4,4 Hz, 4H), 3,22 (t, *J*=4,8 Hz, 4H); MS ESI [M+H]⁺ 242,1, calculat pentru [C₁₀H₁₂FN₃O₃+H]⁺ 242,1.

B. 4-fluor-5-morfolinobenzen-1,2-diamină

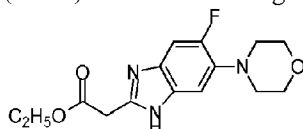
La un balon de 100 ml cu fund rotund s-a încărcat cu 4-fluor-5-morfolino-2-nitroanilină (1,23 g) și MeOH (37 ml) la tc sub pătură Ar. S-a adăugat Raney Nickel (0,123 g) sub agitare cu precauție la tc. Masa de reacție a fost încălzită încet la 60-65 °și s-a adăugat hidrat de hidrazină (0,86 ml) la masa de reacție prin picurare în aproximativ 5 minute. Reacția a fost



agitată la 65-70 °C timp de 2 ore. După finalizarea reacției, s-a răcit la tc și s-a filtrat catalizatorul printr-o placă de Celite sub Ar și s-a spălat plăcuța de Celite cu MeOH (5 ml * 2). Filtratul combinat a fost concentrat și purificat prin cromatografie rapidă (gradient: MeOH/DCM 0-25%) pentru a da compusul din titlu ca un solid maro deschis (0,615 g, 57%). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 6,51- 6,47 (m, 2H), 3,81 (t, *J*=4,8 Hz, 4H), 2,93 (t, *J*=4,8 Hz, 4H); MS ESI [M+H]⁺ 212,0, calculat pentru [C₁₀H₁₄FN₃O+H]⁺ 212,1.

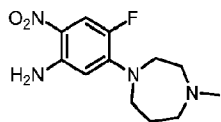
C. 2-(5-fluor-6-morfolino-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil

La o soluție de 4-fluor-5-morfolinobenzen-1,2-diamină (0,615 g, 2,91 mmol) în EtOH (30 ml) la 65 °C s-a adăugat clorhidrat 3-etoxi-3-iminopropionat de etil (1,14 g, 5,82



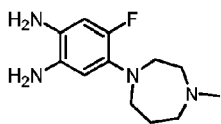
mmol) în două loturi egale la un interval de 5 min fiecare. Apoi se agit masa de reacție la 65 °C timp de 2 ore. După finalizarea reacției, s-a concentrat masa de reacție sub presiune redusă pentru a lăsa în urmă ulei maro gros. La uleiul rezultat H₂ (25 ml) s-a adăugat și s-a ajustat la pH ~ 10 folosind 2 M apos Na₂CO₃. Amestecul rezultat a fost extras cu DCM (30 ml * 2) și extractele combinate au fost concentrate și purificate prin cromatografie rapidă (gradient: Hex/EtOAc 0-40%, apoi MeOH/DCM 0-20%) pentru a da compusul din titlu ca un solid maro (0,786 g, 88%). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,26 (d, *J*=12,4 Hz, 1H), 7,19 (d, *J*=7,6 Hz, 1H), 4,25 - 4,20 (m, 2H), 3,88 (t, *J*=4,4 Hz, 4H), 3,08 (t, *J*=4,8 Hz, 4H), 1,28 (t, *J*=7,2 Hz, 3H); MS ESI [M+H]⁺ 308,1,0, calculat pentru [C₁₅H₁₈FN₃O₃+H]⁺ 308,1.

2-(6-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil A. 5-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)-2-nitroanilină

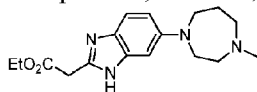


Un amestec de 5-clor-2-nitroanilină (8,63 g, 50 mmol), 1-metil-1,4-diazepan (6,85 g, 60 mmol) și K₂CO₃ (8,28 g, 60 mmol) a fost încălzit la 90 °C timp de 20 de ore. După diluare cu H₂O (500 ml), a fost extras cu EtOAc (60 ml x 3), concentrat și uscat pentru a obține produsul brut 5-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)-2-nitroanilină sub formă de ulei roșu închis (12,50 g). RMN a indicat un amestec de produs și 5-clor-2-nitroanilină (2:1). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,72 (d, *J*=10,0 Hz, 1H), 6,26 (dd, *J*=9,8, 2,6 Hz, 1H), 6,02 (d, *J*=2,4 Hz, 1H), 3,66-3,63 (m, 2H), 3,58 (t, *J*=6,4 Hz, 2H), 2,77-2,74 (m, 2H), 2,62-2,59 (m, 2H), 2,39 (s, 3H), 2,07-2,00 (m, 2H); MS ESI [M+H]⁺ 251,3, calculat pentru [C₁₂H₁₈N₄O₂+H]⁺ 251,15.

B. 4-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)benzen-1,2-diamină



La un amestec de 5-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)-2-nitroanilină brută (12,50 g) și Raney-Nickel (1,25 g) în MeOH (150 ml) la 65 °C s-a adăugat $N_2H_4 \cdot H_2O$ (12,0 ml) timp de 10 min. După adăugare, amestecul rezultat a fost agitat la 70 °C timp de 30 min. După răcire la tc, a fost filtrat prin Celite și clătit cu MeOH. Filtratul a fost concentrat și uscat pentru a da 4-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)benzen-1,2-diamină brută sub forma unui ulei maro roșu închis (10,57 g).



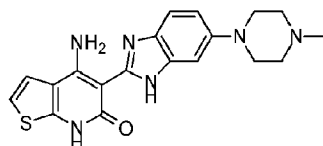
1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 6,63 (d, $J=8,0$ Hz, 1H), 6,53 (dd, $J=8,4$, 2,4 Hz, 1H), 6,26 (d, $J=2,4$ Hz, 1H), 3,60-3,40 (m, 4H), 2,75-2,71 (m, 2H), 2,62-2,58 (m, 2H), 2,37 (s, 3H), 2,04-1,97 (m, 2H).

C. 2-(6-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil

Un amestec de 4-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)benzen-1,2-diamină (10,57 g) și clorhidrat 3-etoxi-3-iminopropionat de etil (19,50 g, 100 mmol) în EtOH (200 ml) a fost încălzit la 90 °C timp de 2 ore. După îndepărtarea solvenților, a fost diluat cu H_2O (50 ml), se alcalinizează cu soluție apoasă Na_2CO_3 2 M (40 ml) și s-a extras cu DCM (60 ml x 3). Extractele combinate au fost concentrate și purificate prin cromatografie rapidă (gradient: 0-100% EtOAc/hexan, apoi MeOH/DCM 0-25%) pentru a da compusul din titlu ca un ulei maro închis (7,31 g, 46% în 3 etape). 1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,38 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 6,82-6,77 (m, 2H), 4,22 (q, $J=6,8$ Hz, 2H), 3,66-3,61 (m, 2H), 3,54 (t, $J=6,4$ Hz, 2H), 2,85-2,80 (m, 2H), 2,68-2,64 (m, 2H), 2,41 (s, 3H), 2,12-2,05 (m, 2H), 1,29 (t, $J=7,0$ Hz, 3H); MS ESI $[M+H]^+$ 317,3, calculat pentru $[C_{17}H_{24}N_4O_2+H]^+$ 317,20.

Exemple reprezentative:

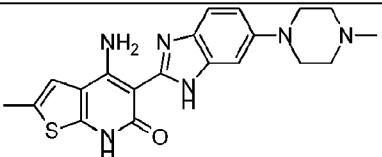
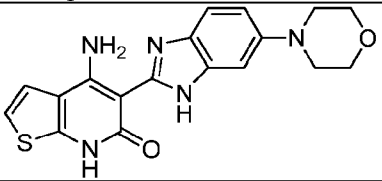
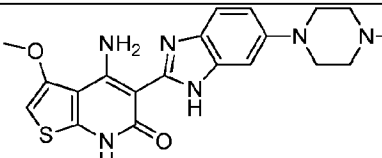
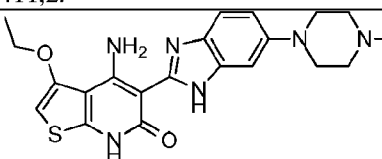
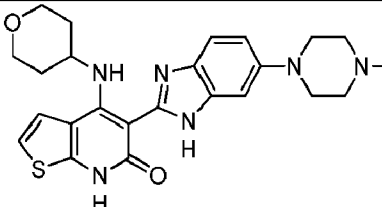
A1: 4-amino-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă

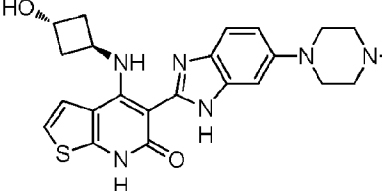
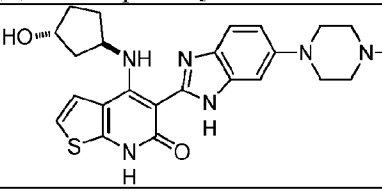
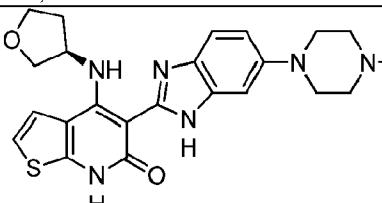


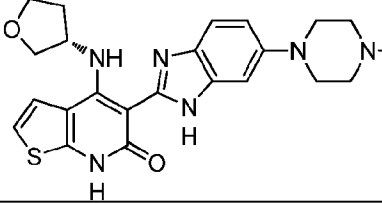
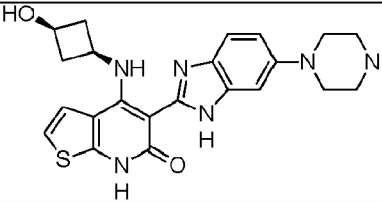
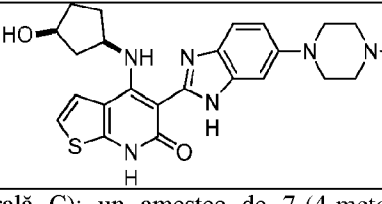
La o soluție de 2-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (2,42 g, 8,05 mmol) și 2-aminotiofen-3-carbonitril (1,0 g, 8,05 mmol) în THF anh (40 ml) la 40 °C LDA adăugat (40 ml, 1 M în THF/hexan, 40 mmol) prin picurare timp de 15 minute sub Ar. Soluția brună rezultată a fost agitată la 40 °C timp de 2 ore și apoi a fost stinsă cu soluție apoasă saturată de NH_4Cl (50 ml) la tc. Amestecul s-a diluat cu H_2O (125 ml) și extras cu acetat de etil (2 x 200 ml). Straturile organice combinate au fost spălate o dată cu H_2O , uscate pe Na_2SO_4 și concentrate pentru a da produsul brut. Produsul brut a fost triturat cu DCM (20 ml) urmat de MeOH (25 ml) pentru a da compusul din titlu ca un solid maro deschis (1,95 g, 64%).

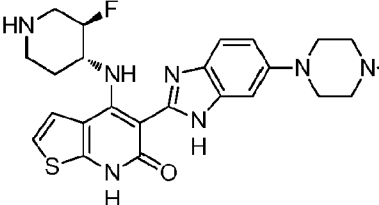
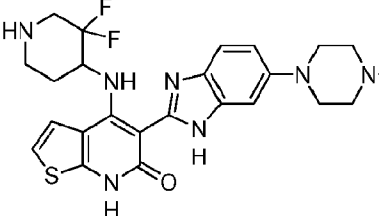
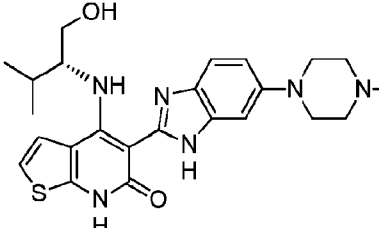
Bază liberă (1,95 g) a fost suspendată în MeOH (50 ml) și s-a adăugat $HCl \cdot Et_2O$ 1 M (13 ml) la tc. Suspensia a fost agitată timp de 15 minute la tc și concentrată sub vid și azeotropată cu MeOH (2 x 25 ml) pentru a da sarea HCl sub forma unui solid maro închis (2,28 g, 62%); 1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,69 (d, $J=9,2$ Hz, 1H), 7,52 (d, $J=5,6$ Hz, 1H), 7,36 (dd, $J=8,8$, 2,4 Hz, 1H), 7,30 (d, $J=2,4$ Hz, 1H), 7,19 (d, $J=5,6$ Hz, 1H), 3,97-3,93 (m, 2H), 3,70-3,67 (m, 2H), 3,39-3,35 (m, 2H), 3,34-3,18 (m, 2H), 3,01 (s, 3H); MS ESI $[M+H]^+$ 381,2, calculat pentru $[C_{19}H_{20}N_6OS+H]^+$ 381,1.

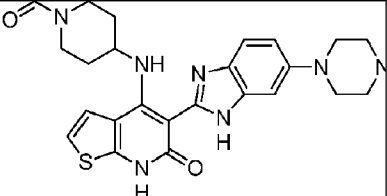
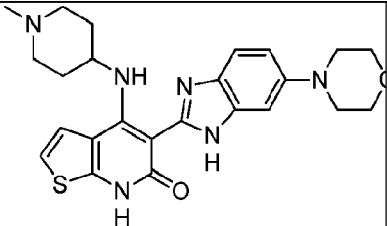
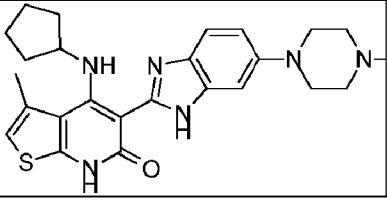
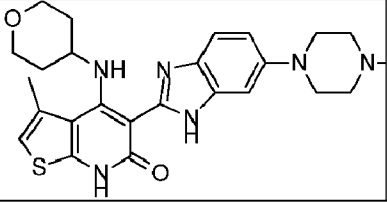
Exemplu/nume IUPAC	Structură	Randament; descriere; sare
A2: 4-amino-3-metil-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		64 mg (38%); 2HCl solid gri
Reactivi (metoda generală A1): 2-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (110 mg, 0,36 mmol), 2-amino-4-metiltiofen-3-carbonitril (50 mg, 0,36 mmol), LDA (1,62 ml, 1 M în THF/hexan, 1,62 mmol), THF anh (5,0 ml)		
1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,72 (d, $J=9,2$ Hz, 1H), 7,41 (dd, $J=8,8$ Hz, 2,4 Hz, 1H), 7,33 (d,		

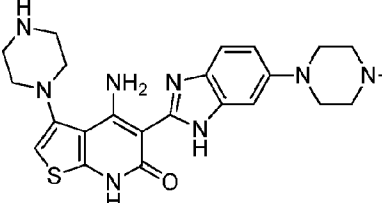
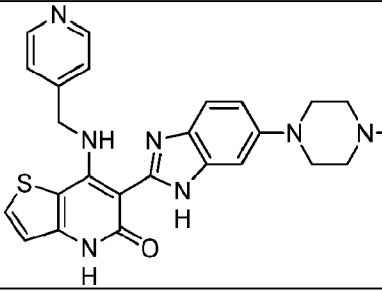
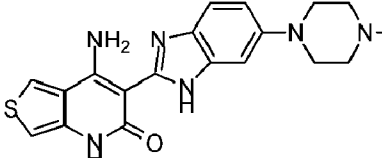
$J=2,0$ Hz, 1H), 6,76 (d, $J=0,8$ Hz, 1H), 3,98-3,94 (m, 2H), 3,70-3,67 (m, 2H), 3,38-3,35 (m, 2H), 3,27-3,21 (m, 2H), 3,00 (s, 3H), 2,30 (s, 3H); MS calculat; MS ESI $[M+H]^+$ 395,3, calculat pentru $[C_{20}H_{22}N_6OS+H]^+$ 395,1		
A3: 4-amino-2-metil-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		18 mg (10%); 2HCl solid maro deschis
Reactivi (metoda generală A1): 2-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (110 mg, 0,36 mmol), 2-amino-5-metiltiofen-3-carbonitril (50 mg, 0,36 mmol), LDA (1,80 ml, 1 M in THF/hexan, 1,80 mmol), THF anh (5,0 ml)		
1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,68 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 7,38-7,31 (m, 2H), 7,18 (s, 1H), 3,96-3,93 (m, 2H), 3,70-3,67 (m, 2H), 3,40-3,34 (m, 2H), 3,25-3,19 (m, 2H), 3,01 (s, 3H), 2,52 (s, 3H); MS calculat; MS ESI $[M+H]^+$ 395,3, calculat pentru $[C_{20}H_{22}N_6OS+H]^+$ 395,1		
A4: 4-amino-5-(6-morfolin-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		0,51 g (51%); Solid de culoare cafeniu deschis; Bază liberă
Reactivi (metoda generală A1): LiHMDS (1,0 M în THF, 14,3 ml, 14,3 mmol) a fost adăugat prin picurare timp de 20 minute la o soluție agitată de 2-aminotiofen-3-carbonitril (0,340 g, 2,73 mmol), 2-(6-morfolino-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (0,829 g, 2,86 mmol) în THF anh (20 ml) la tc sub Ar. Reacția a fost încălzită la 40 °C timp de 1 oră, apoi răcită la tc, stinsă cu soluție apoasă saturată de NH_4Cl , concentrată sub presiune redusă și purificată prin cromatografie rapidă ($MeOH-CH_2Cl_2$ 0-7%). O probă mică a fost repurificată prin HPLC preparativ pentru a se obține sarea TFA (un solid galben deschis). 1H RMN (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 12,18 (s, 1H), 7,59 (d, $J=5,7$ Hz, 1H), 7,56 (br s, 1H), 7,36-7,24 (br.s, 1H), 7,20 (d, $J=5,7$ Hz, 1H), 7,17-7,08 (m, 1H), 3,86-3,79 (m, 4H), 3,30-3,18 (m, 4H); trei protoni schimbabili pot fi atribuiți la două vârfuri foarte largi 13,47-12,46 (br.s, 1H) și 9,30-7,67 (brs, 2H), MS ESI $[M+H]^+$ 368,2, calculat pentru $[C_{18}H_{17}N_5O_2S+H]^+$ 368,1.		
A5: 4-amino-3-metoxi-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		55 mg (11%); solid maro; TFA
Reactivi (metoda generală A1): 2-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (302 mg, 1 mmol), 2-amino-4-metoxitiofen-3-carbonitril (154 mg, 1 mmol), LDA (1,0 M in THF/hex, 5 ml, 5 mmol), THF (10 ml). 1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,70 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 7,39 (dd, $J=9,2$, 2,4 Hz, 1H), 7,31 (d, $J=1,6$ Hz, 1H), 6,09 (s, 1H), 3,98-3,88 (m, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,72-3,64 (m, 2H), 3,38-3,28 (m, 2H), 3,25-3,14 (m, 2H), 2,87 (s, 3H); MS ESI $[M+H]^+$ 411,3, calculat pentru $[C_{20}H_{22}N_6O_2S+H]^+$ 411,2.		
A6: 4-amino-3-etoxi-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		200 mg (61%); solid maro închis; 2HCl sare
Reactivi (metoda generală A1): 2-amino-4-etoxitiofen-3-carbonitril (111 mg, 0,66 mmol), 2-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (200 mg, 0,66 mmol), LiHMDS (1 M in THF, 2,65 ml, 2,65 mmol). 1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,72 (d, $J=8,7$ Hz, 1H), 7,42 (d, $J=8,4$ Hz, 1H), 7,32 (s, 1H), 6,08 (s, 1H), 4,08 (q, $J=6,8$ Hz, 2H), 3,96 (d, $J=11,5$ Hz, 2H), 3,68 (d, $J=11,8$ Hz, 2H), 3,41-3,26 (m, 2H), 3,27-3,16 (m, 2H), 3,01 (s, 3H), 1,42 (t, $J=6,8$ Hz, 3H); MS ESI $[M+H]^+$ 425,3, calculat pentru $[C_{21}H_{24}N_6O_2S+H]^+$ 425,2.		
A7: 5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4-((tetrahidro-2H-piran-4-il)amino)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		35 mg (43%); solid maro; TFA

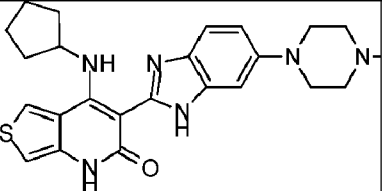
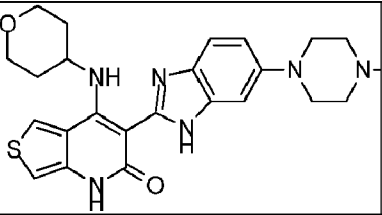
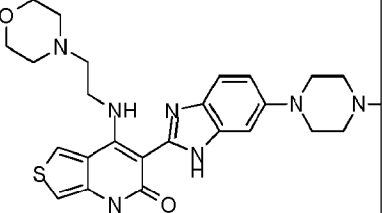
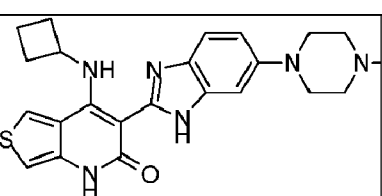
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metil-piperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (0,11 g, 0,14 mmol), tetrahidro-2H-piran-4-amină (0,035 g, 0,35 mmol), DCM (15 ml). MS ESI [M+H]⁺ 717,2, calculat pentru [C₃₃H₃₅F₃N₆O₅S₂+H]⁺ 717,21.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4-((tetrahidro-2H-piran-4-il)amino)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă (0,10 g, 0,14 mmol), TFA (7 ml) și HCl conc. (1 ml). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,65 (d, J=9,0 Hz, 1H), 7,58 (d, J=5,8 Hz, 1H), 7,29 (s, 2H), 7,19 (d, J=6,0 Hz, 1H), 4,02-3,83 (m, 4H), 3,74-3,60 (m, 2H), 3,58-3,46 (m, 1H), 3,43-3,33 (m, 2H), 3,29-3,09 (m, 4H), 3,01 (s, 3H), 2,03-1,90 (m, 2H), 1,85-1,69 (m, 2H); MS ESI [M+H]⁺ 465,3, calculat pentru [C₂₄H₂₈N₆O₂S+H]⁺ 465,2.		
A8: 4-(((1r,3r)-3-hidroxiciclobutil)amino)-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		18 mg (16%); solid galben; 2 HCl
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metil-piperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (0,17 g, 0,22 mmol), (1r,3r)-3-aminociclobutanol sare HCl (0,068 g, 0,55 mmol), DCM (10 ml). MS ESI [M+H]⁺ 703,2, calculat pentru [C₃₂H₃₃F₃N₆O₅S₂+H]⁺ 703,19.		
Etapa 2: Reactivi (Metoda Generală D): un amestec de 4-(((1r,3r)-3-hidroxiciclobutil)amino)-7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă (0,16 g, 0,22 mmol), TFA (7 ml) și HCl conc. (1 ml). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,69 (d, J=9,3 Hz, 1H), 7,61 (d, J=6,0 Hz, 1H), 7,37 (dd, J=9,0, 2,5 Hz, 1H), 7,34-7,29 (m, 1H), 7,20 (d, J=6,0 Hz, 1H), 4,45-4,33 (m, 1H), 4,03-3,90 (m, 3H), 3,76-3,61 (m, 2H), 3,42-3,36 (m, 2H), 3,30-3,18 (m, 2H), 3,01 (s, 3H), 2,54-2,42 (m, 2H), 2,14-2,03 (m, 2H); MS ESI [M+H]⁺ 451,3, calculat pentru [C₂₃H₂₆N₆O₂S+H]⁺ 451,2.		
A9: 4-(((1R*,3R*)-3-hidroxiciclopentil)amino)-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		15 mg (11%); solid galben; 2 HCl
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metil-piperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (0,17 g, 0,22 mmol), (1R*,3R*)-3-aminociclopentanol sare HCl (0,076 g, 0,55 mmol), DCM (10 ml). MS ESI [M+H]⁺ 717,2, calculat pentru [C₃₃H₃₅F₃N₆O₅S₂+H]⁺ 717,21.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de 4-(((1R*,3R*)-3-hidroxiciclopentil)amino)-7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă (0,16 g, 0,22 mmol), TFA (7 ml) și HCl conc. (1 ml). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,68 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,67 (d, J=6,0 Hz, 1H), 7,39 (dd, J=8,8, 2,3 Hz, 1H), 7,32 (d, J=2,0 Hz, 1H), 7,20 (d, J=5,8 Hz, 1H), 4,32-4,24 (m, 1H), 4,01-3,91 (m, 2H), 3,86-3,75 (m, 1H), 3,73-3,64 (m, 2H), 3,41-3,36 (m, 2H), 3,30-3,19 (m, 2H), 3,01 (s, 3H), 2,06-1,94 (m, 2H), 1,91-1,84 (m, 2H), 1,74-1,62 (m, 1H), 1,47-1,40 (m, 1H); MS ESI [M+H]⁺ 465,2, calculat pentru [C₂₄H₂₈N₆O₂S+H]⁺ 465,2.		
A10: (R)-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4-((tetrahidrofuran-3-il)amino)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		87 mg (53%); solid galben; TFA
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metil-piperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (0,23 g, 0,30 mmol), (R)-tetrahidrofuran-3-amină (0,11 g, 0,90 mmol), DCM (12 ml). MS ESI [M+H]⁺ 703,2, calculat pentru [C₃₂H₃₃F₃N₆O₅S₂+H]⁺ 703,19.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de (R)-7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-		

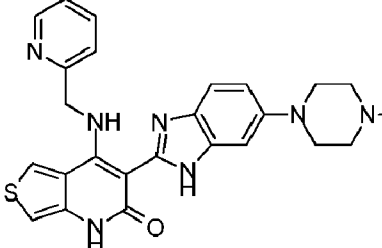
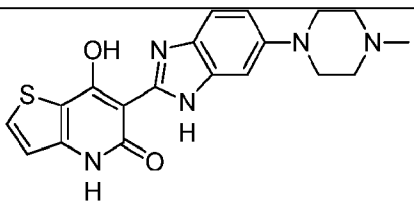
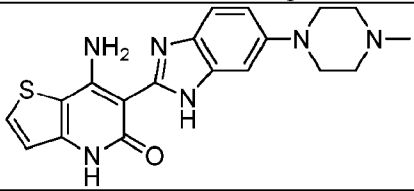
metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4-((tetrahidrofuran-3-il)amino)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă (0,21 g, 0,30 mmol), TFA (7 ml) și HCl conc. (1 ml). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,61 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,59 (d, J=6,0 Hz, 1H), 7,28-7,22 (m, 2H), 7,17 (d, J=5,8 Hz, 1H), 4,30-4,22 (m, 1H), 4,05-3,97 (m, 1H), 3,92-3,75 (m, 5H), 3,65 (br.s., 2H), 3,38-3,26 (m, 2H), 3,24-3,08 (m, 2H), 3,00 (s, 3H), 2,28-2,16 (m, 1H), 2,14-2,05 (m, 1H); MS ESI [M+H]⁺ 451,2, calculat pentru [C₂₃H₂₆N₆O₂S+H]⁺ 451,2.		
A11: (S)-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4-((tetrahidrofuran-3-il)amino)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		61 mg (36%); solid maro; TFA
Etapă 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidro-tieno[2,3-b]piridin-4-il (0,23 g, 0,30 mmol), (S)-tetrahidrofuran-3-amină (0,11 g, 0,90 mmol), DCM (12 ml). MS ESI [M+H]⁺ 703,2, calculat pentru [C₃₂H₃₃F₃N₆O₅S₂+H]⁺ 703,19.		
Etapă 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de (S)-7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4-((tetrahidrofuran-3-il)amino)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă (0,21 g, 0,30 mmol), TFA (7 ml) și HCl conc. (1 ml). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,63 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,61 (d, J=5,8 Hz, 1H), 7,29-7,23 (m, 2H), 7,19 (d, J=5,8 Hz, 1H), 4,33-4,22 (m, 1H), 4,06-3,97 (m, 1H), 3,95-3,76 (m, 5H), 3,66 (br.s., 2H), 3,41-3,32 (m, 2H), 3,24-3,08 (m, 2H), 3,01 (s, 3H), 2,29-2,16 (m, 1H), 2,14-2,02 (m, 1H); MS ESI [M+H]⁺ 451,2, calculat pentru [C₂₃H₂₆N₆O₂S+H]⁺ 451,18.		
A12: 4-(((1s,3s)-3-hidroxiciclobutil)amino)-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		101 mg (60%); solid galben; TFA
Etapă 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidro-tieno[2,3-b]piridin-4-il (0,23 g, 0,30 mmol), (1s, 3s)-3-aminociclobutanol sare HCl (0,11 g, 0,90 mmol), DMF (8 ml). MS ESI [M+H]⁺ 703,1, calculat pentru [C₃₂H₃₃F₃N₆O₅S₂+H]⁺ 703,19.		
Etapă 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de 4-(((1s,3s)-3-hidroxiciclobutil)amino)-7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă (0,21 g, 0,30 mmol), TFA (7 ml) și HCl conc. (1 ml). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,62 (d, J=9,5 Hz, 1H), 7,57 (d, J=6,0 Hz, 1H), 7,30-7,21 (m, 2H), 7,16 (d, J=6,0 Hz, 1H), 3,97-3,79 (m, 3H), 3,73-3,50 (m, 3H), 3,40-3,26 (m, 2H), 3,17 (m, 2H), 3,00 (s, 3H), 2,69-2,56 (m, 2H), 2,16-2,00 (m, 2H); MS ESI [M+H]⁺ 451,2, calculat pentru [C₂₃H₂₆N₆O₂S+H]⁺ 451,2.		
A13: 4-(((1R*,3S*)-3-hidroxiciclopentil)amino)-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		96 mg (57%); solid galben; TFA
Etapă 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidro-tieno[2,3-b]piridin-4-il (0,23 g, 0,30 mmol), (1S*,3R*)-3-aminociclopentanol sare HCl (0,12 g, 0,90 mmol), DMF (8 ml). MS ESI [M+H]⁺ 717,2, calculat pentru [C₃₃H₃₅F₃N₆O₅S₂+H]⁺ 717,21.		
Etapă 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de 4-(((1R*,3S*)-3-hidroxiciclopentil)amino)-7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă (0,21 g, 0,30 mmol), TFA (7 ml) și HCl conc. (1 ml). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,62 (d, J=9,0 Hz, 1H), 7,53 (d, J=5,8 Hz, 1H), 7,28 (dd, J=2,1, 8,9 Hz, 1H), 7,24 (d, J=1,8 Hz, 1H), 7,19 (d, J=5,8 Hz, 1H), 4,47-4,39 (m, 1H), 4,23-4,12 (m, 1H), 3,96-3,81 (m, 2H), 3,73-3,60 (m, 2H), 3,39-3,26 (m, 2H), 3,25-3,11 (m, 2H), 3,00 (s, 3H), 2,09-1,82 (m, 6H); MS ESI [M+H]⁺ 465,2, calculat pentru [C₂₄H₂₈N₆O₂S+H]⁺ 465,2.		

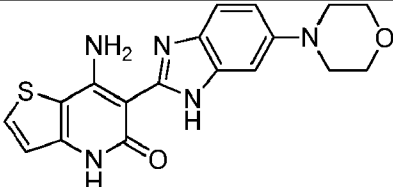
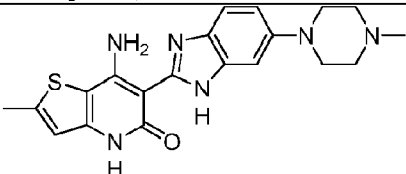
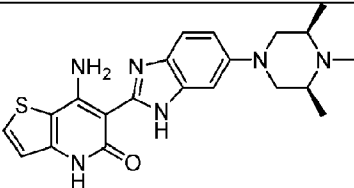
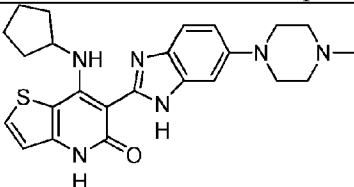
A14: 4-(((3R,4R)-3-fluoropiperidin-4-il)amino)-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		126 mg (58%); solid portocaliu; 2 TFA
Eta 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metil-piperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (0,24 g, 0,31 mmol), (3R,4R)-4-amino-3-fluoropiperidin-1-carboxilat de terț-butil (0,20 g, 0,93 mmol), DMF (5 ml). MS ESI $[M-CF_3O_2S+2H]^+$ 702,2, calculat pentru $[C_{37}H_{44}FN_7O_4S+H]^+$ 702,3.		
Eta 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de 3-fluor-4-((7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il)amino) piperidin-1-carboxilat de (3R,4R)-terț-butil (0,26 g, 0,31 mmol), TFA (7 ml) și HCl conc. (1 ml). 1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,57 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 7,51 (d, $J=6,0$ Hz, 1H), 7,23 (d, $J=1,8$ Hz, 1H), 7,19 (d, $J=6,0$ Hz, 1H), 7,15 (dd, $J=1,8, 8,8$ Hz, 1H), 5,13-4,87 (m, 2H), 4,33-4,21 (m, 1H), 3,94-3,50 (m, 6H), 3,44-3,34 (m, 2H), 3,28-3,07 (m, 3H), 3,00 (s, 3H), 2,49-2,37 (m, 1H), 2,19-2,05 (m, 1H); MS ESI $[M+H]^+$ 482,2, calculat pentru $[C_{24}H_{28}FN_7OS+H]^+$ 482,2.		
A15: 4-((3,3-difluoropiperidin-4-il)amino)-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		134 mg (59%); solid galben; 2 TFA
Eta 1: Reactivi (metoda generală C): Un amestec de trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metil-piperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (0,24 g, 0,31 mmol), 4-amino-3,3-difluoropiperidin-1-carboxilat de terț-butil (0,22 g, 0,93 mmol), DMF (5 ml). MS ESI $[M-CF_3O_2S+H]^+$ 719,2, calculat pentru $[C_{37}H_{43}F_2N_7O_4S]^+$ 719,31.		
Eta 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de 3,3-difluor-4-((7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il)amino)piperidină-1-carboxilat de terț-butil (0,26 g, 0,31 mmol), TFA (7 ml) și HCl conc. (1 ml). 1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,60-7,50 (m, 2H), 7,26-7,17 (m, 2H), 7,13 (dd, $J=1,8, 9,0$ Hz, 1H), 4,65-4,48 (m, 1H), 3,96-3,45 (m, 8H), 3,29-3,04 (m, 4H), 2,98 (s, 3H), 2,59-2,41 (m, 1H), 2,40-2,22 (m, 1H); MS ESI $[M+H]^+$ 500,2, calculat pentru $[C_{24}H_{27}F_2N_7OS+H]^+$ 500,2.		
A16: (R)-4-((1-hidroxi-3-metilbutan-2-il)amino)-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		40 mg (29%), solid galben; bază liberă
Eta 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (brut, 0,30 mmol), (R)-2-amino-3-metilbutan-1-ol (0,12 g, 1,2 mmol), DMF (7 ml). ESI $[M+H]^+$ 719,2, calculat pentru $[C_{33}H_{37}F_3N_6O_5S_2+H]^+$ 719,2		
Eta 2: Reactivi (metoda generală D): (R)-4-((1-hidroxi-3-metilbutan-2-il)amino)-7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă (brut, 0,30 mmol), TFA (5 ml), HCl (1 ml). 1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,65 (d, $J=6,0$ Hz, 1H), 7,47-7,42 (m, 1H), 7,19-7,13 (m, 1H), 7,10 (d, $J=5,7$ Hz, 1H), 7,02-6,94 (m, 1H), 4,27-4,19 (m, 1H), 3,92-3,82 (m, 2H), 3,21 (br s, 4H), 2,69 (br s, 4H), 2,38 (s, 3H), 2,32-2,22 (m, 1H), 1,23 (d, $J=7,0$ Hz, 3H), 1,02 (d, $J=7,0$ Hz, 3H); ESI $[M+H]^+$ 467,3, calculat pentru $[C_{24}H_{30}N_6O_2S+H]^+$ 467,2		

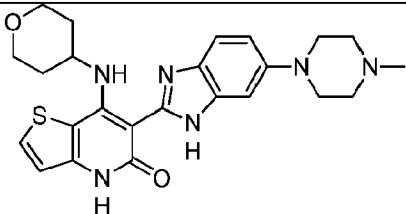
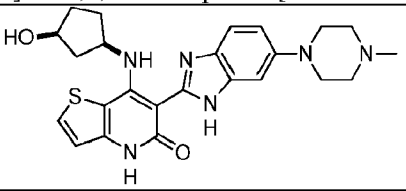
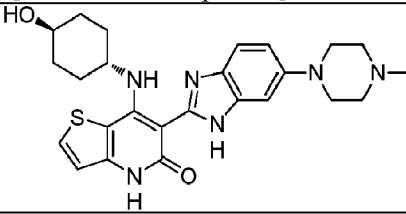
A17: 4-((5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il)amino)piperidin-1-carbaldehidă		40 mg (27%), solid galben; Bază liberă
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (brut, 0,30 mmol), 4-aminopiperidin-1-carbaldehidă (0,15 g, 1,2 mmol), DMF (7 ml). ESI [M+H] ⁺ 744,1, calculat pentru [C ₃₄ H ₃₆ F ₃ N ₇ O ₅ S ₂ +H] ⁺ 744,2		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): 4-((7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il)amino)piperidin-1-carbaldehidă (brut, 0,30 mmol), TFA (5 ml), HCl (1 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8,06 (s, 1H), 7,45 (s, 2H), 7,18-7,06 (m, 2H), 7,00-6,91 (m, 1H), 4,52-4,40 (m, 1H), 4,09-3,95 (m, 1H), 3,84-3,73 (m, 1H), 3,52-3,38 (m, 2H), 3,20 (br s, 4H), 2,66 (br s, 4H), 2,36 (s, 3H), 2,14 (br s, 2H), 1,91-1,69 (m, 2H); ESI [M+H] ⁺ 492,2, calculat pentru [C ₂₅ H ₂₉ N ₇ O ₅ S+H] ⁺ 492,2		
A18: 4-((1-metilpiperidin-4-il)amino)-5-(6-morfolino-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		15 mg (8%), solid galben; Bază liberă
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-morfolino-1-((trifluorometil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (brut, 0,41 mmol), 4-aminopiperidin-1-carboxilat de terț-butil (0,19 g, 1,6 mmol), DMF (7 ml). ESI [M+H] ⁺ 717,1, calculat pentru [C ₃₃ H ₃₅ F ₃ N ₆ O ₅ S ₂ +H] ⁺ 717,2		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): 7-(4-metoxibenzil)-4-((1-metilpiperidin-4-il)amino)-5-(5 și/sau 6-morfolino-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă (brut, 0,30 mmol), TFA (5 ml), HCl (1 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,52-7,43 (m, 2H), 7,19-7,10 (m, 2H), 7,03-6,95 (m, 1H), 4,38-4,23 (m, 1H), 3,92-3,82 (m, 4H), 3,19-3,10 (m, 4H), 2,98-2,87 (m, 2H), 2,59-2,44 (m, 2H), 2,38 (s, 3H), 2,26-2,14 (m, 2H), 2,00-1,87 (m, 2H); ESI [M+H] ⁺ 465,2, calculat pentru [C ₂₄ H ₂₈ N ₆ O ₅ S+H] ⁺ 465,2		
A19: 4-(ciclopentilamino)-3-metil-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		59 mg (36%); Solid galben 2HCl
Etapa 01: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-3-metil-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (242 mg, 0,31 mmol), ciclopentilamină 80 mg, 0,93 mmol), DMF (4 ml); MS calculat; MS ESI [M+H] ⁺ 715,2, calculat pentru [C ₃₄ H ₃₇ F ₃ N ₆ O ₄ S ₂ +H] ⁺ 715,2		
Etapa 02: Reactivi (metoda generală D): 4-(ciclopentilamino)-7-(4-metoxibenzil)-3-metil-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă (245 mg), TFA (6 ml), HCl conc. (1 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,72 (d, J=9,2 Hz, 1H), 7,44-7,41 (m, 1H), 7,32 (d, J=1,6 Hz, 1H), 6,86 (s, 1H), 3,99-3,96 (m, 2H), 3,71-3,68 (m, 2H), 3,40-3,34 (m, 2H), 3,28-3,23 (m, 2H), 3,18-3,15 (m, 1H), 3,01 (s, 3H), 2,65 (s, 3H), 1,68-1,61 (m, 6H), 1,46-1,44 (m, 2H); MS ESI [M+H] ⁺ 463,2, calculat pentru [C ₂₅ H ₃₀ N ₆ OS+H] ⁺ 463,2		
A20: 3-metil-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4-((tetrahidro-2H-piran-4-il)amino)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		60 mg (35%); Solid galben 2HCl
Etapa 01: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-3-metil-5-(5		

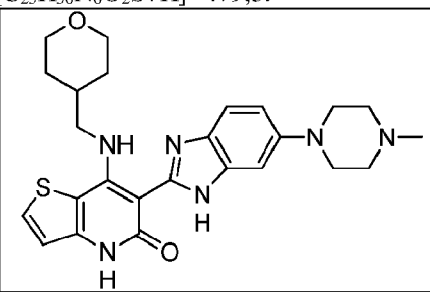
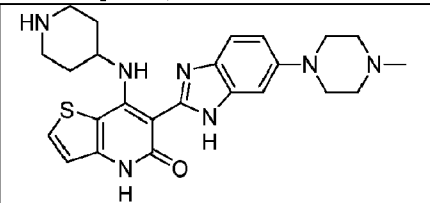
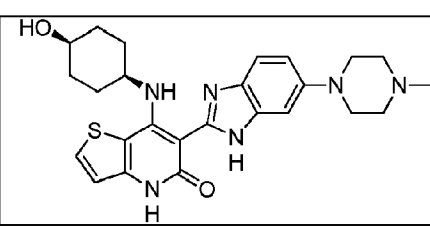
și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno-[2,3-b]piridin-4-il (242 mg, 0,31 mmol), tetrahidro-2H-piran-4-amină (95 mg, 0,93 mmol), DMF (4 ml). MS calculat; MS ESI [M+H] ⁺ 731,2, calculat pentru [C ₃₄ H ₃₇ F ₃ N ₆ O ₅ S ₂ + H] ⁺ 731,2		
Etapa 02: Reactivi (metoda generală D): 7-(4-metoxibenzil)-3-metil-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4-((tetrahidro-2H-piran-4-il)amino)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă (250 mg), TFA (4 ml), HCl conc (1 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,75 (d, J=9,2 Hz, 1H), 7,44 (dd, J=9,2, 2,0 Hz, 1H), 7,35 (d, J=2,0 Hz, 1H), 6,88 (s, 1H), 4,01-3,98 (m, 2H), 3,81-3,78 (m, 2H), 3,71-3,68 (m, 2H), 3,40-3,35 (m, 2H), 3,31-3,23 (m, 2H), 3,01 (s, 3H), 2,86-2,80 (m, 2H), 2,68 (s, 3H), 2,62-2,56 (m, 1H), 1,83-1,80 (m, 2H), 1,65-1,55 (m, 2H); MS ESI [M+H] ⁺ 479,1, calculat pentru [C ₂₅ H ₃₀ N ₆ O ₂ S+ H] ⁺ 479,2		
A21: 4-amino-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-3-(piperazin-1-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		74 mg (82%); solid alutaceu; 2TFA
4-(4-amino-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidro-tieno[2,3-b]piridin-3-il)piperazin-1-carboxilat de terț-butil (77,8 mg, 0,13 mmol) în DCM (20 ml) a fost tratat cu TFA (2 ml) la tc. Reacția a fost agitată 2,5 ore înainte de a fi concentrată sub presiune redusă și purificată prin HPLC prep. ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,71 (d, J=9,0 Hz, 1H), 7,40 (dd, J=9,0, 2,3 Hz, 1H), 7,32 (d, J=2,0 Hz, 1H), 6,40 (s, 1H), 4,02-3,85 (m, 2H), 3,74-3,61 (br m, 2H), 3,46-3,38 (m, 4H), 3,37-3,28 (m, 6H), 3,26-3,11 (m, 2H), 3,00 (s, 3H); MS ESI [M+H] ⁺ 465,4, calculat pentru [C ₂₃ H ₂₈ N ₈ OS+ H] ⁺ 465,2.		
A22: 6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-7-((piridin-4-ilmetil)amino)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă		16 mg (9%); solid galben; sare TFA
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidro-tieno[3,2-b]piridin-7-il (brut, 0,3 mmol), piridin-4-ilmetanamină (0,09 ml, 0,89 mmol). MS ESI [M+H] ⁺ 724,2, calculat pentru [C ₃₄ H ₃₂ F ₃ N ₇ O ₄ S ₂ + H] ⁺ 724,2.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-7-((piridin-4-ilmetil)amino)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă, TFA (4 ml), HCl conc. (1 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8,77 (d, J=6,8 Hz, 2H), 8,05 (d, J=6,8 Hz, 2H), 7,84 (d, J=5,6 Hz, 1H), 7,58 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,25 (d, J=2,0 Hz, 1H), 7,14 (dd, J=8,8, 2,0 Hz, 1H) 7,06 (d, J=5,6 Hz, 1H), 5,41 (s, 2H), 3,91-3,78 (m, 2H), 3,75-3,59 (m, 2H), 3,41-3,33 (m, 2H), 3,21-3,05 (m, 2H), 3,00 (m, 3H). MS ESI [M+H] ⁺ 472,3, calculat pentru [C ₂₅ H ₂₅ N ₇ OS+H] ⁺ 472,2.		
Exemplu/nume IUPAC	Structură	Randament; descriere; sare
A23: 4-amino-3-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,4-b]piridin-2(1H)-onă		43 mg (18%); Solid 2HCl galben pal
Reactivi (metoda generală A1): 2-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (160 mg, 0,52 mmol), 4-aminotiofen-3- carbonitril (65 mg, 0,52 mmol), LDA (2,6 ml, 1 M în THF/hexan, 2,35 mmol), THF anh (6,0 ml)		
¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8,39 (d, J=3,2 Hz, 1H), 7,69 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,39-7,37 (m, 1H), 7,30 (d, J=2,0 Hz, 1H), 6,96 (d, J=3,6 Hz, 1H), 3,97-3,94 (m, 2H), 3,71-3,67 (m, 2H), 3,39-3,35 (m, 2H), 3,24-3,18 (m, 2H), 3,01 (s, 3H); MS ESI [M+H] ⁺ 381,1, calculat pentru [C ₁₉ H ₂₀ N ₆ OS+H] ⁺ 381,1		

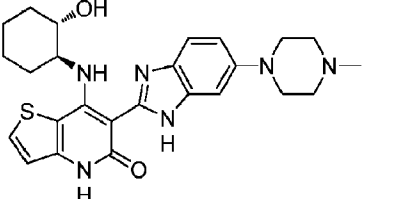
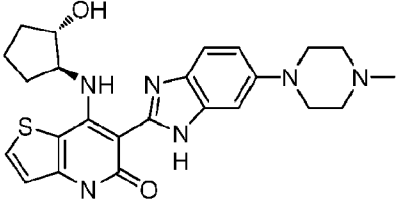
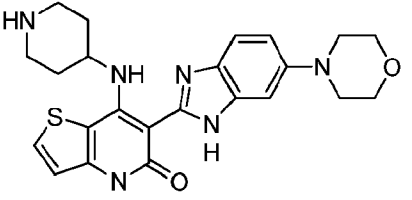
A24: 4-(ciclopentilamino)-3-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,4-b]piridin-2(1H)-onă		11 mg (5%); Solid galben 2HCl
Etapa 01: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 1-(4-metoxibenzil)-3-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-oxo-1,2-dihidrotieno[3,4-b]piridin-4-il (223 mg, 0,29 mmol), ciclopentilamină (73 ml, 0,72 mmol), DCM (10 ml). MS ESI [M+H] ⁺ 701,2, calculat pentru [C ₃₃ H ₃₅ F ₃ N ₆ O ₄ S ₂ +H] ⁺ 701,2		
Etapa 02: Reactivi (metoda generală D): 4-(ciclopentilamino)-1-(4-metoxibenzil)-3-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,4-b]piridin-2(1H)-onă (180 mg, 0,25 mmol), TFA (7 ml), HCl conc (1 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8,53 (d, J=3,2 Hz, 1H), 7,71 (d, J=9,2 Hz, 1H), 7,42 (dd, J=9,2 Hz, 2,4 Hz, 1H), 7,32 (d, J=2,0 Hz, 1H), 6,97 (d, J=3,2 Hz, 1H), 3,99-3,96 (m, 2H), 3,70-3,67 (m, 2H), 3,39-3,35 (m, 2H), 3,28-3,22 (m, 2H), 3,01 (s, 3H), 1,71-1,69 (m, 6H), 1,38-1,37 (m, 2H), 1H fuzionat cu H ₂ O; MS ESI [M+H] ⁺ 449,2, calculat pentru [C ₂₄ H ₂₈ N ₆ OS+H] ⁺ 449,2.		
A25: 3-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4-((tetrahidro-2H-piran-4-il)amino)tieno[3,4-b]piridin-2(1H)-onă		12 mg (4%); 2HCl solid maro inchis
Etapa 01: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 1-(4-metoxibenzil)-3-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-oxo-1,2-dihidrotieno[3,4-b]piridin-4-il (380 mg, 0,49 mmol), tetrahidro-2H-piran-4-amină (125 mg, 1,23 mmol), DCM (10 ml). MS ESI [M+H] ⁺ 717,2, calculat pentru [C ₃₃ H ₃₅ F ₃ N ₆ O ₅ S ₂ +H] ⁺ 717,2		
Etapa 02: Reactivi (metoda generală D): 1-(4-metoxibenzil)-3-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4-((tetrahidro-2H-piran-4-il)amino)tieno[3,4-b]piridin-2(1H)-onă (110 mg, 0,15 mmol), TFA (4 ml), HCl conc (0,5 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8,50 (d, J=3,2 Hz, 1H), 7,75 (d, J=8,2 Hz, 1H), 7,45 (dd, J=9,2 Hz, 2,4 Hz, 1H), 7,34 (d, J=2,0 Hz, 1H), 6,98 (d, J=3,2 Hz, 1H), 4,02-3,99 (m, 2H), 3,84-3,81 (m, 2H), 3,71-3,68 (m, 2H), 3,50-3,37 (m, 2H), 3,27-3,21 (m, 2H), 3,02 (s, 3H), 2,80-2,77 (m, 2H), 2,75-2,64 (m, 1H), 1,80-1,66 (m, 4H); MS ESI [M+H] ⁺ 465,2, calculat pentru [C ₂₄ H ₂₈ N ₆ O ₂ S+H] ⁺ 465,2		
A26: 3-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4-((2-morfolinoetil)amino)tieno[3,4-b]piridin-2(1H)-onă		38 mg (26%); Solid galben Bază liberă
Etapa 01: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 1-(4-metoxibenzil)-3-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-oxo-1,2-dihidrotieno[3,4-b]piridin-4-il (229 mg, 0,30 mmol), 2-morfolinoetanamină (97 mg, 0,75 mmol), DCM (6 ml). MS ESI [M+H] ⁺ 746,2, calculat pentru [C ₃₄ H ₃₈ F ₃ N ₇ O ₅ S ₂ +H] ⁺ 746,2		
Etapa 02: Reactivi (metoda generală D): 1-(4-metoxibenzil)-3-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4-((2-morfolinoetil)amino)tieno[3,4-b]piridin-2(1H)-onă (210 mg, 0,28 mmol), TFA (4 ml), HCl conc (0,5 ml). ¹ H RMN (bază liberă, 400 MHz, CD ₃ OD) δ 8,37 (d, J=2,8 Hz, 1H), 7,42 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,14 (s, 1H), 6,98 (d, J=7,2 Hz, 1H), 6,87 (d, J=3,2 Hz, 1H), 4,05 (t, J=6,0 Hz, 2H), 3,75 (br.s, 4H), 3,21 (br.s, 4H), 2,85 (t, J=6,0 Hz, 2H), 2,68-2,64 (m, 8H), 2,38 (s, 3H); MS ESI [M+H] ⁺ 494,2, calculat pentru [C ₂₅ H ₃₁ N ₇ O ₂ S+H] ⁺ 494,2		
A27: 4-(ciclobutilamino)-3-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,4-b]piridin-2(1H)-onă		30 mg (20%); Solid galben 2HCl

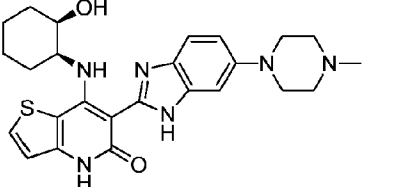
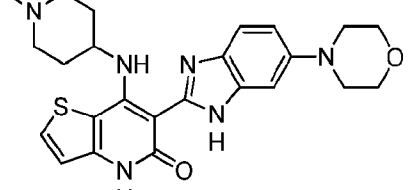
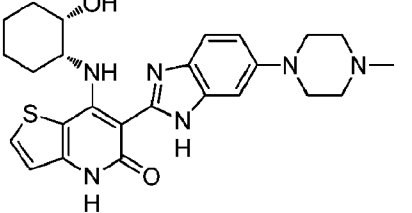
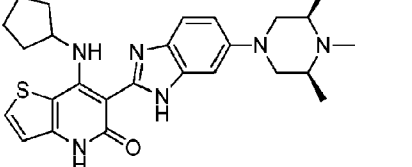
Etapa 01: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 1-(4-metoxibenzil)-3-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-oxo-1,2-dihidrotieno[3,4-b]piridin-4-il (229 mg, 0,30 mmol), ciclobutilamină (53 mg, 0,75 mmol), DCM (6 ml) MS ESI [M+H] ⁺ 687,1, calculat pentru [C ₃₂ H ₃₃ F ₃ N ₆ O ₄ S ₂ +H] ⁺ 687,2		
Etapa 02: Reactivi (metoda generală D): 4-(ciclobutilamino)-1-(4-metoxibenzil)-3-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,4-b]piridin-2(1H)-onă (210 mg, 0,28 mmol), TFA (4 ml), HCl conc (0,5 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8,51 (d, J=3,6 Hz, 1H), 7,70 (d, J=9,2 Hz, 1H), 7,41 (dd, J=9,2 Hz, 2,0 Hz, 1H), 7,31 (d, J=2,0 Hz, 1H), 6,96 (d, J=3,2 Hz, 1H), 3,99-3,96 (m, 2H), 3,71-3,68 (m, 2H), 3,63-3,59 (m, 1H), 3,39-3,35 (m, 2H), 3,28-3,22 (m, 2H), 3,01 (s, 3H), 2,23-2,21 (m, 2H), 2,06-2,00 (m, 2H), 1,74-1,66 (m, 1H), 1,49-1,38 (m, 1H); MS ESI [M+H] ⁺ 435,2, calculat pentru [C ₂₃ H ₂₆ N ₆ OS+H] ⁺ 435,1		
A28: 3-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4-((piridin-2-ilmetil)amino)tieno[3,4-b]piridin-2(1H)-onă		15 mg (13%); Solid galben pal 2HCl
Etapa 01: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 1-(4-metoxibenzil)-3-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-oxo-1,2-dihidrotieno[3,4-b]piridin-4-il (168 mg, 0,22 mmol), 2-picolilamină (60 mg, 0,55 mmol), DCM (4 ml) MS ESI [M+H] ⁺ 724,1, calculat pentru [C ₃₄ H ₃₂ F ₃ N ₇ O ₄ S ₂ +H] ⁺ 724,2		
Etapa 02: Reactivi (metoda generală D): 1-(4-metoxibenzil)-3-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4-((piridin-2-ilmetil)amino)tieno[3,4-b]piridin-2(1H)-onă (65 mg, 0,09 mmol), TFA (3 ml), HCl conc (0,5 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8,62 (d, J=5,6 Hz, 1H), 8,49-8,43 (m, 2H), 7,97-7,93 (m, 1H), 7,85 (d, J=8,0 Hz, 1H), 7,62 (d, J=9,2 Hz, 1H), 7,40 (dd, J=9,2 Hz, 2,4 Hz, 1H), 7,23 (d, J=2,0 Hz, 1H), 7,04 (d, J=3,2 Hz, 1H), 4,84 (s, 2H), 4,00-3,96 (m, 2H), 3,70-3,67 (m, 2H), 3,40-3,37 (m, 2H), 3,28-3,22 (m, 2H), 3,02 (s, 3H); MS ESI [M+H] ⁺ 472,2, calculat pentru [C ₂₅ H ₂₅ N ₇ OS+H] ⁺ 472,2		
Exemplu/nume IUPAC	Structură	Randament; descriere; sare
A29: 7-hidroxi-6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă		6,6 mg (10%); Solid galben pal; TFA
Etapa 1: Reactivi (metoda generală A1): 1-(4-metoxibenzil)-1H-tieno[3,2-d][1,3]oxazin-2,4-dionă (0,75 g, 2,6 mmol), 2-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (0,79 g, 2,6 mmol), KHMDS (13 ml, 13 mmol), THF (30 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ 13,64 (br. s, 1H), 12,64 (br.s., 1H), 7,52 (br. s., 1H), 7,40-7,29 (m, 1H), 7,21 (d, J=7,5 Hz, 2H), 7,04-6,88 (m, 3H), 6,84 (d, J=8,0 Hz, 2H), 5,35 (br. s., 2H), 3,76 (s, 3H), 3,20 (br.s., 4H), 2,62 (br. s., 4H), 2,39 (br.s., 3 H); MS ESI [M+H] ⁺ 502,4, calculat pentru [C ₂₇ H ₂₇ N ₅ O ₃ S+H] ⁺ 502,18.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): 7-hidroxi-4-(4-metoxibenzil)-6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă (0,090 g, 0,18 mmol), TFA (7 ml) și HCl conc. (1 ml). ¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 13,52-13,14 (m, 2 H), 11,25 (s, 1H), 9,79 (br. s, 1H), 7,81 (d, J=5,3 Hz, 1H), 7,64 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,37 (d, J=2,3 Hz, 1H), 7,10 (dd, J=9,0, 2,5 Hz, 1H), 6,92 (d, J=5,0 Hz, 1H), 3,85-3,66 (m, 2H), 3,64-3,46 (m, 2H), 3,29-3,13 (m, 2H), 3,09-2,92 (m, 2H), 2,87 (s, 3H); MS ESI [M+H] ⁺ 382,3, calculat pentru [C ₁₉ H ₁₉ N ₅ O ₂ S+H] ⁺ 382,45.		
A30: 7-amino-6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă		1,5 g (79%) solid galben, bază liberă
O soluție de 3-aminotiofen-2-carbonitril (951 mg, 7,67 mmol) și 2-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (2,316 g, 7,67 mmol) în THF anhidru (55 ml) a fost încălzit până la 40 °C în baie de ulei și LiHMDS (30,7 ml, 1,0 M în THF, 30,7 mmoli) a fost adăugat prin		

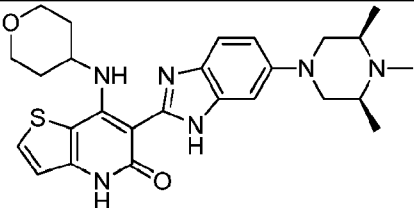
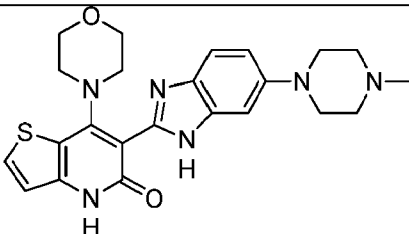
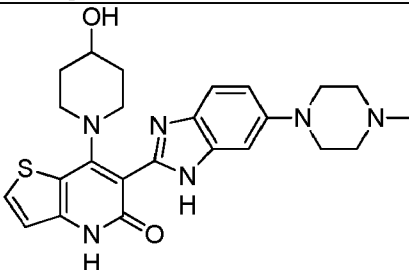
picurare timp de 30 de minute. Amestecul de reacție rezultat a fost agitat la 40 °C timp de 2 ore, apoi răcit la tc și stins cu soluție apoasă saturată de NH₄Cl în baie de gheață. Stratul apos a fost extras cu EtOAc. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă. Reziduul a fost triturat cu DCM și filtrat. Turta filtrantă a fost triturată din nou cu MeOH apoi filtrată pentru a da compusul din titlu sub forma unui solid galben strălucitor (1,495 g, 79%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-<i>d</i>₆) δ 12,34 (s, 1H), 11,81 (s, 1H), 10,73-10,47 (m, 1H), 7,96-7,91 (m, 1H), 7,90-7,78 (m, 1H), 7,52-7,43 (m, 1H), 7,09-7,25 (m, 1H), 7,00 (d, <i>J</i>=5,3 Hz, 1H), 6,93-6,86 (m, 1H), 3,18-3,14 (m, 4H), 2,65-2,54 (m, 4H), 2,30 (s, 3H); MS ESI [M+H]⁺ 381,5, calculat pentru [C₁₉H₂₀N₆OS+H]⁺ 381,1.		
A31: 7-amino-6-(6-morfolino-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă		16 mg (13%); solid alb; HCl
LiHMDS (1,0 M în THF, 1,7 ml, 1,7 mmol) a fost adăugat prin picurare timp de 10 minute la o soluție agitată de 3-aminotiofen-2-carbonitril (0,425 g, 0,34 mmol), 2-(6-morfolino-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (0,103 g, 0,36 mmol) în THF anh (10 ml) la tc sub Ar. Reacția a fost încălzită la 40 °C timp de 1 oră și purificat direct prin cromatografie rapidă (MeOH în CH₂Cl₂ 0-10%), urmată de HPLC preparativă. Materialul a fost în continuare recristalizat sub formă de EtOAc/hexani și triturat cu MeOH. Gri rezultat solid (25 mg) a fost suspendat în MeOH și tratat cu HCl (1,0 M în Et₂O, 0,14 ml) la tc. Reacția a fost concentrată sub presiune redusă. Bază liberă: ¹H RMN (400 MHz, DMF-<i>d</i>₇) δ 11,94 (s, 1H), 8,18 (m, 1H), 7,78 (d, <i>J</i>=8,3 Hz, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,35 (d, <i>J</i>=5,2 Hz, 1H), 7,25 (d, <i>J</i>=7,8 Hz, 1H), 4,06-4,00 (m, 4H), 3,40 (br s, 4H). *trei protoni schimbabili sunt probabil ascunși de un vârf din cauza H₂O și DMF-<i>d</i>₇; MS ESI [M+H]⁺ 368,2, calculat pentru [C₁₈H₁₇N₅O₂S+H]⁺ 368,1.		
A32: 7-amino-2-metil-6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă		124 mg (44%); solid maro; TFA
Reactivi (metoda generală A1): 3-amino-5-metiltiofen-2-carbonitril (0,080 g, 0,58 mmol), 2-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (0,18 g, 0,58 mmol), LDA (2,6 ml, 2,6 mmol), THF (5 ml). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-<i>d</i>₆) δ 11,75 (br. s., 1H), 9,84 (br. s., 1H), 7,53 (br.s., 1H), 7,24 (br.s., 1H), 6,98 (br.s., 1H), 6,77 (br. s., 1H), 3,82-3,39 (m, 7H), 3,22 (br. s., 2H), 3,08-2,76 (m, 5H), 2,56 (br.s., 3H); MS ESI [M+H]⁺ 395,3, calculat pentru [C₂₀H₂₂N₆OS+H]⁺ 395,5.		
A33: 7-amino-6-(6-(3<i>r</i>,5<i>s</i>)-rel-3,4,5-trimetilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă		43 mg (18%); solid galben; 2HCl
Reactivi (metoda generală A1): 2-(6-((3<i>r</i>,5<i>s</i>)-rel-3,4,5-trimetilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (165 mg, 0,5 mmol), 3-aminotiofen-2-carbonitril (124 mg, 1 mmol), LDA (1,0 M în THF/hex, 2,5 ml, 2,5 mmol), THF (8 ml). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,99 (d, <i>J</i>=1,6 Hz, 1H), 7,68 (d, <i>J</i>=9,2 Hz, 1H), 7,38 (dd, <i>J</i>=9,0, 2,2 Hz, 1H), 7,31 (d, <i>J</i>=2,0 Hz, 1H), 7,11 (d, <i>J</i>=5,6 Hz, 1H), 4,03-3,95 (m, 2H), 3,65-3,55 (m, 2H), 3,10-3,04 (m, 2H), 3,03 (s, 3H), 1,56 (d, <i>J</i>=6,4 Hz, 6H); MS ESI [M+H]⁺ 409,3, calculat pentru [C₂₁H₂₄N₆OS+H]⁺ 409,17.		
A34: 7-(ciclopentilamino)-6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă		77 mg (26%); solid maro; TFA
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidro-tieno[3,2-b]piridin-7-il (0,41 g, 0,54 mmol), ciclopentilamină (0,13 ml, 1,3 mmol), MeCN (10 ml). MS ESI [M+H]⁺ 701,3, calculat pentru [C₃₃H₃₅F₃N₆O₄S₂+H]⁺ 701,2.		

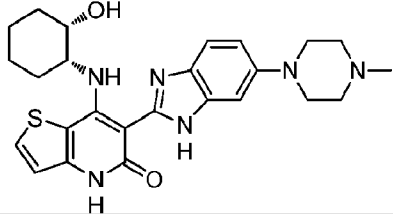
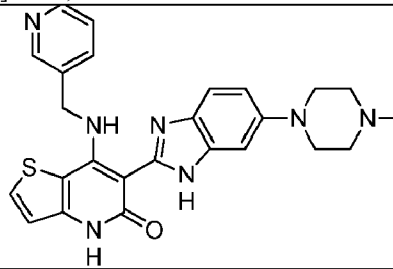
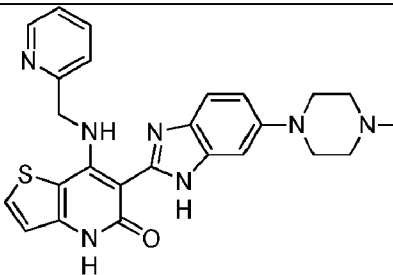
Etapă 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de 7-(ciclopentilamino)-4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă (0,38 g, 0,54 mmol), TFA (7 ml) și HCl conc. (1 ml). ¹H RMN (400 MHz, <i>DMSO-d</i>₆) δ 12,99 (br.s, 1H), 12,11 (br.s, 1H), 11,87 (s, 1H), 9,65 (br. s, 1H), 8,04 (d, <i>J</i>=5,5 Hz, 1H), 7,61-7,40 (m, 1H), 7,32-7,13 (m, 1H), 7,04 (d, <i>J</i>=5,5 Hz, 1H), 6,93 (dd, <i>J</i>=8,5, 2,5 Hz, 1H), 4,72-4,60 (m, 1H), 3,80-3,69 (m, 2H), 3,59-3,52 (m, 2H), 3,29-3,15 (m, 2H), 3,02-2,90 (m, 2H), 2,88 (d, <i>J</i>=3,5 Hz, 3H), 2,21-2,06 (m, 2H), 1,93-1,67 (m, 6H); MS ESI [<i>M</i>+<i>H</i>]⁺ 449,3, calculat pentru [C₂₄H₂₈N₆OS+H]⁺ 449,2.		
A35: 6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-7-((tetrahydro-2H-piran-4-il)amino)tieno[3, 2-b]piridin-5(4H)-onă		69 mg (52%); solid galben; TFA
Etapă 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidro-tieno[3,2-b]piridin-7-il (0,18 g, 0,23 mmol), tetrahydro-2H-piran-4-amină (0,058 ml, 0,58 mmol), MeCN (5 ml). MS ESI [<i>M</i>+<i>H</i>]⁺ 717,3, calculat pentru [C₃₃H₃₅F₃N₆O₅S₂+H]⁺ 717,2.		
Etapă 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-7-((tetrahydro-2H-piran-4-il)amino)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă (0,17 g, 0,23 mmol), TFA (7 ml) și HCl conc. (1 ml). ¹H RMN (400 MHz, <i>DMSO-d</i>₆) δ 13,02 (br.s, 1H), 12,18 (br. s, 1H), 11,92 (s, 1H), 9,63 (br.s, 1H), 8,04 (d, <i>J</i>=5,5 Hz, 1H), 7,54 (d, <i>J</i>=8,0 Hz, 1H), 7,30-7,14 (m, 1 H), 7,04 (d, <i>J</i>=5,5 Hz, 1H), 6,96 (dd, <i>J</i>=8,3, 2,3 Hz, 1H), 4,49-4,34 (m, 1H), 4,02-3,93 (m, 2H), 3,81-3,74 (m, 2H), 3,57 (d, <i>J</i>=9,0 Hz, 4H), 3,31-3,15 (m, 2H), 3,02-2,91 (m, 2H), 2,88 (d, <i>J</i>=3,8 Hz, 3H), 2,13 (d, <i>J</i>=3,3 Hz, 2H), 1,81-1,64 (m, 2H); MS ESI [<i>M</i>+<i>H</i>]⁺ 465,3, calculat pentru [C₂₄H₂₈N₆O₂S+H]⁺ 465,2.		
A36: 7-(((1<i>R</i>*, 3<i>S</i>*)-3-hidroxiciclopentil)amino)-6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă		33 mg (28%); solid galben; TFA
Etapă 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il (0,15 g, 0,20 mmol), (1<i>S</i>*,3<i>R</i>*)-3-aminociclopentanol (0,070 g, 0,50 mmol), DCM (10 ml). MS ESI [<i>M</i>+<i>H</i>]⁺ 717,3, calculat pentru [C₃₃H₃₅F₃N₆O₅S₂+H]⁺ 717,2.		
Etapă 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de 7-(((1<i>R</i>*,3<i>S</i>*)-3-hidroxiciclopentil)amino)-4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă (0,14 g, 0,20 mmol), TFA (7 ml) și HCl conc. (1 ml). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,04 (d, <i>J</i>=5,5 Hz, 1H), 7,61 (d, <i>J</i>=9,0 Hz, 1H), 7,29-7,20 (m, 2H), 7,11 (d, <i>J</i>=5,5 Hz, 1H), 4,82-4,73 (m, 1H), 4,57-4,47 (m, 1H), 3,96-3,79 (m, 2H), 3,74-3,58 (m, 2H), 3,42-3,33 (m, 2H), 3,22-3,08 (m, 2H), 3,01 (s, 3H), 2,33-2,19 (m, 2H), 2,16-2,02 (m, 3H), 2,02-1,88 (m, 1H); MS ESI [<i>M</i>+<i>H</i>]⁺ 465,2, calculat pentru [C₂₄H₂₈N₆O₂S+H]⁺ 465,2.		
A37: 7-(((1<i>r</i>,4<i>r</i>)-4-hidroxiciclohexil)amino)-6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă		10 mg (9%), solid galben; bază liberă
Etapă 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il (brut, 0,24 mmol), trans-4-aminociclohexanol (0,11 g, 0,96 mmol), MeCN (10 ml). MS ESI [<i>M</i>+<i>H</i>]⁺ 731,2 calculat pentru [C₃₄H₃₇F₃N₆O₅S₂+H]⁺ 731,2.		
Etapă 2: (metoda generală D): 7-(((1<i>r</i>,4<i>r</i>)-4-hidroxiciclohexil)amino)-4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă (brut, 0,24 mmol), TFA (7 ml), HCl (1 ml); ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,88 (d, <i>J</i>=5,5 Hz, 1H), 7,51-7,41 (m, 1H), 7,24-7,14 (m, 1H), 7,08 (d, <i>J</i>=5,5 Hz, 1H), 7,03-6,95 (m, 1H), 4,32-4,21 (m, 1H), 3,82-3,71 (m, 1H), 3,28-3,20 (m, 4H), 2,86-2,74 (m, 4H), 2,47 (s,		

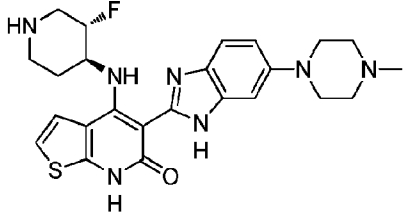
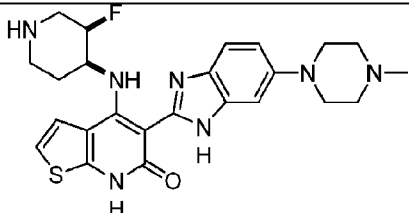
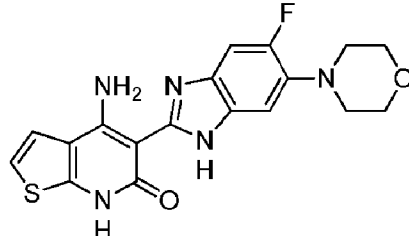
3H), 2,24-2,36 (m, 2H), 2,17-2,06 (m, 2H), 1,78-1,63 (m, 2H), 1,62-1,49 (m, 2H); MS ESI [M+H] ⁺ 479,2, calculat pentru [C ₂₅ H ₃₀ N ₆ O ₂ S+H] ⁺ 479,3.		
A38: 6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-7-(((tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)amino)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă		24 mg (32%) solid galben; Bază liberă
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il (brut, 0,16 mmol), 4-aminometiltetrahidropiran (0,074 g, 0,64 mmol), MeCN (10 ml). MS ESI [M+H] ⁺ 731,3, calculat pentru [C ₃₄ H ₃₇ F ₃ N ₆ O ₅ S ₂ +H] ⁺ 731,2.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-7-(((tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)amino)-teno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă (brut, 0,16 mmol), TFA (7 ml), HCl (1 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,93-7,83 (m, 1H), 7,49-7,40 (m, 1H), 7,21-7,13 (m, 1H), 7,12-7,06 (m, 1H), 7,05-6,96 (m, 1H), 4,10-3,97 (m, 2H), 3,89-3,79 (m, 2H), 3,56-3,44 (m, 2H), 3,26-3,16 (m, 4H), 2,77-2,65 (m, 4H), 2,40 (s, 3H), 2,19-2,07 (m, 1H), 1,99-1,88 (m, 2H), 1,65-1,50 (m, 2H); MS ESI [M+H] ⁺ 479,3, calculat pentru [C ₂₅ H ₃₀ N ₆ O ₂ S+H] ⁺ 479,2.		
A39: 6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-7-(piperidin-4-ilamino)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă		17 mg (19%) Solid maro Bază liberă
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il (brut, 0,20 mmol), 4-aminopiperidin-1-carboxilat de terț-butil (0,16 g, 0,80 mmol), MeCN (10 ml). MS ESI [M+H] ⁺ 816,2, calculat pentru [C ₃₈ H ₄₄ F ₃ N ₇ O ₆ S ₂ +H] ⁺ 816,2		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): 4-((4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il)amino)piperidin-1-carboxilat de terț-butil (brut, 0,20 mmol), TFA (6 ml), HCl (1 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,90-7,83 (m, 1H), 7,52-7,42 (m, 1H), 7,25-7,11 (m, 1H), 7,10-7,05 (m, 1H), 7,04-6,96 (m, 1H), 4,50-4,42 (m, 1H), 3,27-3,16 (m, 6H), 2,91-2,79 (m, 2H), 2,73-2,61 (m, 4H), 2,37 (s, 3H), 2,26-2,17 (m, 2H), 1,89-1,73 (m, 2H); MS ESI [M+H] ⁺ 464,2, calculat pentru [C ₂₄ H ₂₉ N ₇ O ₅ +H] ⁺ 464,2.		
A40: 7-(((1S,4S)-4-hidroxiciclohexil)amino)-6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă		35 mg (30%), solid galben; bază liberă
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il (brut, 0,24 mmol), cis-4-aminociclohexanol (0,11 g, 0,96 mmol), MeCN (10 ml). MS ESI [M+H] ⁺ 731,2, calculat pentru [C ₃₄ H ₃₇ F ₃ N ₆ O ₅ S ₂ +H] ⁺ 731,2		
Etapa 2: (metoda generală D): 7-(((1S,4S)-4-hidroxiciclohexil)amino)-4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă (brut, 0,24 mmol), TFA (5 ml), HCl (1 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,88-7,82 (m, 1H), 7,56-7,41 (m, 1H), 7,29-7,14 (m, 1H), 7,08 (d, J=5,2 Hz, 1H), 7,04-6,96 (m, 1H), 4,50-4,40 (m, 1H), 3,90-3,80 (m, 1H), 3,26-3,17 (m, 4H), 2,73-2,63 (m, 4H), 2,38 (s, 3H), 2,13-1,81 (m, 8H); MS ESI [M+H] ⁺ 479,2, calculat pentru [C ₂₅ H ₃₀ N ₆ O ₂ S+H] ⁺ 479,2		

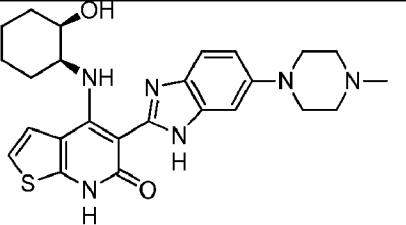
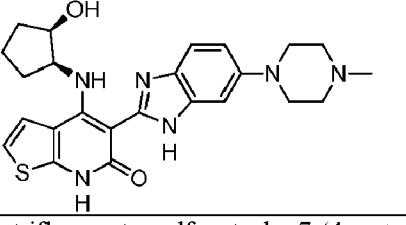
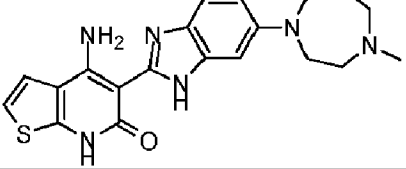
A41: 7-(((1S,2S)-2-hidroxiciclohexil)amino)-6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3, 2-b]piridin-5(4H)-onă		16 mg (23%), solid galben; bază liberă
Etapa 1: (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluor-metil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il (brut, 0,20 mmol), (1S,2S)-2-aminociclohexanol (0,091 g, 0,80 mmol), DMF (7 ml). MS ESI [M+H] ⁺ 731,2, calculat pentru [C ₃₄ H ₃₇ F ₃ N ₆ O ₅ S ₂ + H] ⁺ 731,2		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): 7-(((1S,2S)-2-hidroxiciclohexil)amino)-4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă (brut, 0,14 mmol), TFA (5 ml), HCl (1 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,84 (d, J=5,5 Hz, 1H), 7,55-7,40 (m, 1H), 7,18-7,12 (m, 1H), 7,06 (d, J=5,5 Hz, 1H), 7,03-6,94 (m, 1H), 4,24-4,14 (m, 1H), 3,88-3,77 (m, 1H), 3,27-3,18 (m, 4H), 2,81-2,70 (m, 4H), 2,44 (s, 3H), 2,33 - 2,23 (m, 1H), 2,20-2,10 (m, 1H), 1,91-1,78 (m, 2H), 1,65-1,42 (m, 4H); MS ESI [M+H] ⁺ 479,3, calculat pentru [C ₂₅ H ₃₀ N ₆ O ₂ S + H] ⁺ 479,3		
A42: 7-(((1S,2S)-2-hidroxiciclopentil)amino)-6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3, 2-b]piridin-5(4H)-onă		20 mg (13%), solid galben; bază liberă
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il (brut, 0,32 mmol), (1S, 2S)-2-aminociclopentanol (0,13 g, 1,3 mmol), DMF (7 ml). MS ESI [M+H] ⁺ 717,2 calculat pentru [C ₃₃ H ₃₅ F ₃ N ₆ O ₅ S ₂ + H] ⁺ 717,2		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): 7-(((1S,2S)-2-hidroxiciclopentil)amino)-4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă (brut, 0,32 mmol), TFA (5 ml), HCl (5 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,90-7,84 (m, 1H), 7,48-7,40 (m, 1H), 7,20-7,11 (m, 1H), 7,07 (d, J=5,2 Hz, 1H), 7,03-6,93 (m, 1H), 4,61-4,53 (m, 1H), 4,42-4,34 (m, 1H), 3,27-3,15 (m, 4H), 2,76-2,64 (m, 4H), 2,45-2,32 (m, 4H), 2,30-2,17 (m, 1H), 2,06-1,94 (m, 2H), 1,93-1,82 (m, 1H), 1,82-1,70 (m, 1H); MS ESI [M+H] ⁺ 465,2 calculat pentru [C ₂₄ H ₂₈ N ₆ O ₂ S+H] ⁺ 465,2		
A43: 6-(6-morfolino-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-7-(piperidin-4-ilamino)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă		11 mg (12%), solid maro; bază liberă
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-morfolino-1-((trifluor-metil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il (brut, 0,20 mmol), 4-aminopiperidin-1-carboxilat de terț-butil (0,16 g, 0,8 mmol), DMF (7 ml). MS ESI [M+H] ⁺ 803,2, calculat pentru [C ₃₇ H ₄₁ F ₃ N ₆ O ₇ S ₂ + H] ⁺ 803,2.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): 4-((4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-morfolino-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il)-amino)piperidin-1-carboxilat de terț-butil (brut, 0,20 mmol), TFA (5 ml), HCl (1 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,90-7,84 (m, 1H), 7,52-7,42 (m, 1H), 7,23-7,13 (m, 1H), 7,08 (d, J=5,2 Hz, 1H), 7,04-6,95 (m, 1H), 4,54-4,43 (m, 1H), 3,93-3,83 (m, 4H), 3,29-3,24 (m, 2H), 3,20-3,10 (m, 4H), 2,98-2,86 (m, 2H), 2,29-2,18 (m, 2H), 1,90-1,78 (m, 2H); MS ESI [M+H] ⁺ 451,3, calculat pentru [C ₂₃ H ₂₆ N ₆ O ₂ S+H] ⁺ 451,2.		

A44: 7-(((1S,2R)-2-hidroxiciclohexil)amino)-6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3, 2-b]piridin-5(4H)-onă		20 mg (21%), solid galben; bază liberă
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il (brut, 0,20 mmol), (1R,2S)-2-aminociclohexanol (0,091 g, 0,80 mmol), DMF (7 ml). MS ESI [M+H] ⁺ 731,2, calculat pentru [C ₃₄ H ₃₇ F ₃ N ₆ O ₅ S ₂ + H] ⁺ 731,2.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): 7-(((1S,2R)-2-hidroxiciclohexil)amino)-4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă (brut, 0,20 mmol), TFA (5 ml), HCl (1 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,84 (d, J=5,8 Hz, 1H), 7,56-7,40 (m, 1H), 7,29-7,13 (m, 1H), 7,07 (d, J=5,5 Hz, 1H), 7,03-6,94 (m, 1H), 4,56-4,46 (m, 1H), 4,15-4,04 (m, 1H), 3,27-3,13 (m, 4H), 2,79-2,64 (m, 4H), 2,41 (s, 3H), 2,14-1,95 (m, 2H), 1,91-1,74 (m, 4H), 1,60-1,44 (m, 2H); MS ESI [M+H] ⁺ 479,2, calculat pentru [C ₂₅ H ₃₀ N ₆ O ₂ S + H] ⁺ 479,2.		
A45: 7-((1-metilpiperidin-4-il)amino)-6-(6-morfolino-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă		33 mg (30%), solid maro; bază liberă
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-morfolino-1-((trifluorometil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il (brut, 0,20 mmol), 4-aminopiperidin-1-carboxilat de terț-butil (0,16 g, 0,8 mmol), DMF (7 ml). MS ESI [M+H] ⁺ 717,2, calculat pentru [C ₃₃ H ₃₅ F ₃ N ₆ O ₅ S ₂ + H] ⁺ 717,2.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): 4-(4-metoxibenzil)-7-((1-metilpiperidin-4-il)amino)-6-(5 și/sau 6-morfolino-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă (brut, 0,24 mmol), TFA (5 ml), HCl (1 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,91-7,84 (m, 1H), 7,53-7,43 (m, 1H), 7,22-7,13 (m, 1H), 7,08 (d, J=5,5 Hz, 1H), 7,05-6,94 (m, 1H), 4,48-4,33 (m, 1H), 3,93-3,83 (m, 4H), 3,20-3,10 (m, 4H), 3,02-2,87 (m, 2H), 2,61-2,43 (m, 2H), 2,40 (s, 3H), 2,31-2,16 (m, 2H), 2,01-1,87 (m, 2H); MS ESI [M+H] ⁺ 465,2, calculat pentru [C ₂₄ H ₂₈ N ₆ O ₂ S+ H] ⁺ 465,2.		
A46: 7-(((1R,2S)-2-hidroxiciclohexil)amino)-6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3, 2-b]piridin-5(4H)-onă		12 mg (4%), solid galben; bază liberă
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il (brut, 0,20 mmol), (1S,2R)-2-aminociclohexanol (0,091 g, 0,80 mmol), DMF (7 ml). MS ESI [M+H] ⁺ 731,2, calculat pentru [C ₃₄ H ₃₇ F ₃ N ₆ O ₅ S ₂ + H] ⁺ 731,2.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): 7-(((1R,2S)-2-hidroxiciclohexil)amino)-4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă (brut, 0,20 mmol), TFA (5 ml), HCl (1 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,82 (d, J=5,2 Hz, 1H), 7,55-7,38 (m, 1H), 7,29-7,10 (m, 1H), 7,05 (d, J=5,5 Hz, 1H), 7,01-6,93 (m, 1H), 4,55-4,43 (m, 1H), 4,15-4,05 (m, 1H), 3,22 (br s, 4H), 2,70 (br s, 4H), 2,39 (s, 3H), 2,14-1,96 (m, 3H), 1,92-1,73 (m, 5H); MS ESI [M+H] ⁺ 479,2, calculat pentru [C ₂₅ H ₃₀ N ₆ O ₂ S + H] ⁺ 479,2.		
A47: 7-(ciclopentilamino)-6-(6-(3r,5s)-rel-3,4,5-trimetilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă		21 mg (18%); solid maro; TFA

Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-5-oxo-6-(1-((trifluormetil)sulfonil)-5 și/sau 6-((3r,5s)-rel-3,4,5-trimetilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il (brut, 0,2 mmol), ciclopentilamină (0,1 ml), DMF (6 ml). MS ESI [M+H] ⁺ 729,2, calculat pentru [C ₃₅ H ₃₉ F ₃ N ₆ O ₄ S ₂ + H] ⁺ 729,2.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): 7-(ciclopentilamino)-4-(4-metoxibenzil)-6-(1-((trifluormetil)sulfonil)-5 și/sau 6-((3s,5r)-rel-3,4,5-trimetilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-teno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă (brut, 0,2 mmol), TFA (6 ml) și HCl concentrat (0,5 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,94 (d, J=5,6 Hz, 1H), 7,56 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,26-7,23 (m, 1H), 7,18-7,14 (m, 1H), 7,09 (d, J=5,6 Hz, 1H), 4,67-4,60 (m, 1H), 3,92-3,85 (m, 2H), 3,60-3,50 (m, 2H), 3,05-2,88 (m, 5H), 2,22-2,13 (m, 2H), 1,94-1,70 (m, 6H), 5,10 (d, J=6,0 Hz, 6H); MS ESI [M+H] ⁺ 477,3, calculat pentru [C ₂₆ H ₃₂ N ₆ OS+ H] ⁺ 477,2.		
A48: 7-((tetrahydro-2H-piran-4-il)amino)-6-(6-(3r,5s)-rel-3,4,5-trimetilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă		19 mg (16%); solid galben; TFA
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-5-oxo-5 și/sau 6-(1-((trifluormetil)sulfonil)-6-((3r,5s)-rel-3,4,5-trimetilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il (brut, 0,2 mmol), tetrahydro-2H-piran-4-amină (0,1 ml), DMF (6 ml). MS ESI [M+H] ⁺ 745,1, calculat pentru [C ₃₅ H ₃₉ F ₃ N ₆ O ₅ S ₂ +H] ⁺ 745,2.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): 4-(4-metoxibenzil)-7-((tetrahydro-2H-piran-4-il)amino)-(5 și/sau 6-(1-((trifluormetil)sulfonil)-6-((3s,5r)-rel-3,4,5-trimetilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5 (4H)-onă (brut, 0,2 mmol) TFA (6 ml) și HCl concentrat (0,5 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,95 (d, J=5,6 Hz, 1H), 7,60 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,28 (d, J=2,0 Hz, 1H), 7,21 (dd, J=8,8, 1,6 Hz, 1H), 7,10 (d, J=5,6 Hz, 1H), 4,40-4,30 (m, 1H), 4,08-4,02 (m, 2H), 3,95-3,87 (m, 2H), 3,63-3,53 (m, 4H), 3,03 (s, 3H), 3,02-2,93 (m, 2H), 2,18-2,11 (m, 2H), 1,86-1,76 (m, 2H), 1,52 (d, J=6,4 Hz, 6H); MS ESI [M+H] ⁺ 493,3, calculat pentru [C ₂₆ H ₃₂ N ₆ O ₅ S+ H] ⁺ 493,2.		
A49: 6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-7-morfolinotieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă		134 mg (79%); solid galben; sare TFA
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il (brut, 0,3 mmol), morfolină (0,08 ml, 0,897 mmol). MS ESI [M+H] ⁺ 703,2, calculat pentru [C ₃₂ H ₃₃ F ₃ N ₆ O ₅ S ₂ + H] ⁺ 703,2.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-7-morfolinotieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă (brut, 0,3 mmol), TFA (5 ml), HCl conc. (1 ml). ¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 12,46 (s, 1H), 9,98 (br. s, 1H), 8,17 (d, J=5,6 Hz, 1H), 7,71 (d, J=9,2 Hz, 1H), 7,33 (dd, J=9,2, 1,2 Hz, 1H), 7,24 (d, J=2,0 Hz, 1H), 7,08 (d, J=5,6 Hz, 1H), 3,92-3,84 (m, 2H), 3,70-3,62 (m, 4H), 3,62-3,57 (m, 2H), 3,35-3,28 (m, 4H), 3,28-3,13 (m, 2H), 3,11-2,99 (m, 2H), 2,89 (s, 3H); MS ESI [M+H] ⁺ 451,3, calculat pentru [C ₂₃ H ₂₆ N ₆ O ₂ S+H] ⁺ 451,2.		
A50: 7-(4-hidroxipiperidin-1-il)-6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridină -5(4H)-onă		126 mg (73%); solid galben; sare TFA
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il (brut, 0,30 mmol), piperidin-4-ol (91 mg, 0,897 mmol), TFA (4mL),		

HCl conc. (1 ml). MS ESI $[M+H]^+$ 717,2, calculat pentru $[C_{33}H_{35}F_3N_6O_5S_2 + H]^+$ 717,2.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): 7-(4-hidroxipiperidin-1-il)-4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă (brut, 0,3 mmol), TFA (5 ml), HCl conc. (1 ml). 1H RMN (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 14,26 (br.s, 1H), 12,33 (s, 1H), 10,04 (br.s, 1H), 8,14 (s, 1H), 7,70 (d, $J=7,28$ Hz, 1H), 7,36-7,28 (m, 1H), 7,23 (br.s., 1H), 7,06 (s, 1H), 3,98-3,83 (m, 2H), 3,75-3,66 (m, 2H), 3,66-3,39 (m, 3H), 3,25-3,10 (m, 4H), 3,10-2,97 (m, 2H), 2,73 (s, 3H), 1,86-1,72 (m, 2H), 1,54-1,39 (m, 2H); MS ESI $[M+H]^+$ 465,3, calculat pentru $[C_{24}H_{28}N_6O_5S_2 + H]^+$ 465,2.		
A51: 7-(((1R,2S)-2-hidroxiciclohexil)amino)-6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3, 2-b]piridin-5(4H)-onă		15 mg (15%), solid galben; bază liberă
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il (brut, 0,20 mmol), (1S,2R)-2-aminociclohexanol (0,091 g, 0,80 mmol), DMF (7 ml). MS ESI $[M+H]^+$ 731,2, calculat pentru $[C_{34}H_{37}F_3N_6O_5S_2 + H]^+$ 731,2.		
Etapa 2: Reactivi (Metoda Generală D): 7-(((1R,2S)-2-hidroxiciclohexil)amino)-4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă (brut, 0,20 mmol), TFA (5 ml), HCl (1 ml) 1H RMN (400 MHz, $MeOD-d_4$) δ 7,82 (d, $J=5,2$ Hz, 1H), 7,55-7,38 (m, 1H), 7,29-7,10 (m, 1H), 7,05 (d, $J=5,5$ Hz, 1H), 7,01-6,93 (m, 1H), 4,55-4,43 (m, 1H), 4,15-4,05 (m, 1H), 3,22 (br s, 4H), 2,70 (br s, 4H), 2,39 (s, 3H), 2,14-1,96 (m, 3H), 1,92-1,73 (m, 5H); MS ESI $[M+H]^+$ 479,2; calculat pentru $[C_{25}H_{30}N_6O_5S_2 + H]^+$ 479,2.		
A52: 6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-7-((piridin-3-ilmetil)amino)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă		57 mg (27%); solid galben; sare TFA
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il (brut, 0,3 mmol), piridin-3-ilmetanamină (0,09 ml, 0,90 mmol). MS ESI $[M+H]^+$ 724,2, calculat pentru $[C_{34}H_{32}F_3N_7O_4S_2 + H]^+$ 724,2.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-7-((piridin-3-ilmetil)amino)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă (brut, 0,3 mmol), TFA (4 ml), HCl conc. (1 ml). 1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,92-8,81 (m, 1H), 8,78-8,67 (m, 1H), 8,56-8,45 (m, 1H), 8,00-7,85 (m, 2H), 7,62- 7,50 (m, 1H), 7,30-7,21 (m, 1H), 7,20-7,13 (m, 1H), 7,12-7,03 (m, 1H), 5,31 (s, 2H), 3,91-3,77 (m, 2H), 3,73-3,57 (m, 2H), 3,41-3,22 (m, 2H), 3,20-3,07 (m, 2H), 3,01 (s, 3H); MS ESI $[M+H]^+$ 472,3, calculat pentru $[C_{25}H_{25}N_7OS + H]^+$ 472,2.		
A53: 6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-7-((piridin-2-ilmetil)amino)-teno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă		100 mg (48%); solid galben; sare TFA
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il (brut, 0,3 mmol), piridin-2-ilmetanamină (0,09 ml, 0,897 mmol). MS ESI $[M+H]^+$ 724,2, calculat pentru $[C_{34}H_{32}F_3N_7O_4S_2 + H]^+$ 724,2.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-		

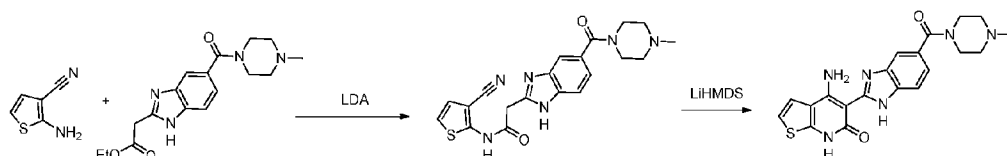
((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-7-((piridin-2-ilmetil)amino)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă (brut, 0,3 mmol), TFA (4 ml), HCl conc. (1 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8,67 (d, J=5,5 Hz, 1H), 8,05 (t, J=7,4 Hz, 1H), 7,94 (d, J=5,5 Hz, 1H), 7,68 (d, J=7,5 Hz, 1H), 7,63 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,58-7,51 (m, 1H), 7,25-7,21 (m, 2H), 7,08 (d, J=5,5 Hz, 1H), 5,25 (s, 2H), 3,95-3,84 (m, 2H), 3,72-3,62 (m, 2H), 3,41-3,33 (m, 2H), 3,21-3,10 (m, 2H), 3,01 (m, 3H). MS ESI [M+H] ⁺ 472,3, calculat pentru [C ₂₅ H ₂₅ N ₇ OS+H] ⁺ 472,2.		
A54: 4-(((3S,4S)-3-fluoropiperidin-4-il)amino)-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		113 mg (53%); solid galben; 2 TFA
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metil-piperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (0,23 g, 0,30 mmol), (3S,4S)-4-amino-3-fluoropiperidin-1-carboxilat de terț-butil (0,20 g, 0,90 mmol), DMF (5 ml). MS ESI [M-CF ₃ O ₂ S+2H] ⁺ 702,2, calculat pentru [C ₃₇ H ₄₄ FN ₇ O ₄ S+H] ⁺ 702,32.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de 3-fluor-4-((7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il)amino)piperidin-1-carboxilat de (3S, 4S)-terț-butil (0,23 g, 0,30 mmol), TFA (7 ml) și HCl conc. (1 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,55 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,48 (d, J=6,0 Hz, 1H), 7,24-7,16 (m, 2H), 7,10 (d, J=8,4 Hz, 1H), 5,12-5,07 (m, 1H), 5,03-4,99 (m, 2H), 4,41 (br.s, 1H), 3,90-3,56 (m, 6H), 3,52-3,43 (m, 1H), 3,32-3,27 (m, 1H), 3,23-3,09 (m, 2H), 3,01 (s, 3H), 2,52-2,41 (m, 1H), 2,21-2,09 (m, 1H); MS ESI [M+H] ⁺ 482,2, calculat pentru [C ₂₄ H ₂₈ FN ₇ OS+H] ⁺ 482,2.		
A55: 4-(((3R*,4S*)-3-fluoropiperidin-4-il)amino)-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		114 mg (54%); solid maro; 2 TFA
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metil-piperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (0,23 g, 0,30 mmol), 4-amino-3-fluoropiperidin-1-carboxilat de (3R*,4S*)-terț-butil (0,20 g, 0,90 mmol), DMF (5 ml). MS ESI [M-CF ₃ O ₂ S+2H] ⁺ 702,2, calculat pentru [C ₃₇ H ₄₄ FN ₇ O ₄ S+H] ⁺ 702,32.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de 3-fluor-4-((7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il)amino)piperidin-1-carboxilat de (3R*, 4S*)-terț-butil (0,23 g, 0,30 mmol), TFA (7 ml) și HCl conc. (1 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,57 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,52 (d, J=6,0 Hz, 1H), 7,24 (d, J=2,1 Hz, 1H), 7,21 (d, J=5,9 Hz, 1H), 7,15 (dd, J=2,1, 8,9 Hz, 1H), 5,19 (d, J=46,7 Hz, 1H), 4,43-4,27 (m, 1H), 3,78 (d, J=12,6 Hz, 3H), 3,72-3,57 (m, 2H), 3,49 (d, J=13,9 Hz, 2 H), 3,41 (d, J=14,2 Hz, 1H), 3,23 (d, J=3,5 Hz, 4H), 3,00 (s, 3H), 2,42-2,23 (m, 2H); MS ESI [M+H] ⁺ 482,2, calculat pentru [C ₂₄ H ₂₈ FN ₇ OS+H] ⁺ 482,2.		
A56: 4-amino-5-(5-fluor-6-morfolino-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-teno[2,3b]-piridin-6(7H)-onă		40 mg (16%); HCl solid maro deschis
Reactivi (metoda generală-AI): 2-(5-fluor-6-morfolino-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (186 mg, 0,60 mmol), 2-amino-2-cianotiofen (75 mg, 0,60 mmol), LDA (3,0 ml, 1 M in THF/hex, 3,0 mmol) THF anh (6,0 ml); ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,58 (d, J=11,6 Hz, 1H), 7,55 - 7,51 (m, 2H), 7,21 (d, J=6,0 Hz, 1H), 3,97 - 3,94 (m, 4H), 3,30 - 3,27 (m, 4H); MS ESI [M+H] ⁺ 386,2, calculat pentru [C ₁₈ H ₁₆ FN ₅ O ₂ S+H] ⁺ 386,1.		

A57: 4-(((1S,2R)-2-hidroxiciclohexil)amino)-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		36 mg (25%), solid galben; Bază liberă
Etapa 1: (Metoda Generală C) trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluor-metil)-sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (brut, 0,30 mmol), (1R,2S)-2-aminociclohexanol (0,14 g, 1,2 mmol), DMF (7 ml). MS ESI [M+H] ⁺ 731,2, calculat pentru [C ₃₄ H ₃₇ F ₃ N ₆ O ₅ S ₂ + H] ⁺ calculat 731,2.		
Etapa 2: (Metoda Generală D) 4-(((1S,2R)-2-hidroxiciclohexil)amino)-7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă (brut, 0,30 mmol), TFA (5 ml), HCl (1 ml); ¹ H RMN (400 MHz, MeOD-d ₄) δ ppm 7,53 (d, J=5,99 Hz, 1H), 7,48 (br. s., 1 H), 7,20 (br. s., 1 H), 7,12 (d, J=5,99 Hz, 1H), 6,97 - 7,04 (m, 1H), 4,38 - 4,47 (m, 1H), 4,04 - 4,11 (m, 1H), 3,19 - 3,28 (m, 4 H), 2,65 - 2,75 (m, 4 H), 2,40 (s, 3 H), 2,17 (m, 1H), 2,00 - 2,08 (m, 1H), 1,75 - 1,90 (m, 4 H), 1,46 - 1,61 (m, 2 H); MS ESI [M+H] ⁺ 479,2, calculat pentru [C ₂₅ H ₃₀ N ₆ O ₂ S + H] ⁺ 479,2.		
A58: 4-(((1S,2R)-2-hidroxiciclopentil)amino)-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-teno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		23 mg (17%), solid galben; Bază liberă
Etapa 1: (metoda generală C) trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)-sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (brut, 0,30 mmol), (1R,2S)-2-aminociclopentanol (0,10 g, 1,2 mmol), DMF (7 ml). MS ESI [C ₃₃ H ₃₅ F ₃ N ₆ O ₅ S ₂ + H] ⁺ calc 717,2, observat 717,2		
Etapa 2: (Metoda Generală D) 4-(((1S,2R)-2-hidroxiciclopentil)amino)-7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă (brut, 0,30 mmol), TFA (5 ml), HCl (1 ml); ¹ H RMN (400 MHz, MeOD-d ₄) δ ppm 7,55 (d, J=5,99 Hz, 1H), 7,42 - 7,51 (m, 1H), 7,12 - 7,25 (m, 1H), 7,09 (d, J=5,87 Hz, 1H), 6,94 - 7,01 (m, 1H), 4,43 - 4,51 (m, 1H), 4,32 - 4,39 (m, 1H), 3,16 - 3,26 (m, 4 H), 2,62 - 2,74 (m, 4 H), 2,38 (s, 3 H), 2,17 - 2,26 (m, 1H), 1,89 - 2,15 (m, 4 H), 1,69 - 1,81 (m, 1H); MS ESI [M+H] ⁺ 465,2, calculat pentru [C ₂₄ H ₂₅ N ₆ O ₂ S + H] ⁺ 465,2		
A59: 4-amino-5-(6-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		28 mg (7%); solid maro; TFA
Reactivi (metoda generală A2): 2-(6-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (255 mg, 0,8 mmol), 2-aminotiofen-3-carbonitril (100 mg, 0,8 mmol), LDA (1,0 M in THF/hex, 4 ml, 4 mmoli), THF (10 ml), 45 °C, 2 ore. S-au obținut 82 mg de amestec neciclizat și ciclizat care a fost reciclat cu KOBu ^t (1,0 M in THF, 1,0 ml, 1 mmol) in THF (10 ml), rt, 30 min apoi 35 °C, 1 oră; ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 6,23 (d, J=9,2 Hz, 1H), 7,52 (d, J=5,6 Hz, 1H), 7,19 (d, J=5,6 Hz, 1H), 7,14 (dd, J=9,0, 2,2 Hz, 1H), 7,03 (d, J=2,0 Hz, 1H), 4,00-3,30 (m, 8H), 3,00 (s, 3H), 2,40-2,30 (m, 2H); MS ESI [M+H] ⁺ 395,5, calculat pentru [C ₂₀ H ₂₂ N ₆ OS+H] ⁺ 395,2		

Următorii compuși au fost preparați conform metodei generale A3.

A60: 4-amino-5-(5-(4-metilpiperazin-1-carbonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]-piridin-6(7H)-onă

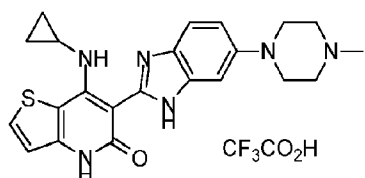
5



- LDA (1,0 M în THF/hexani, 2,3 ml, 2,3 mmol) a fost adăugat prin picurare timp de 15 minute la tc la o suspensie agitată de 2-(6-(4-metilpiperazin-1-carbonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (0,150 g, 0,45 mmol) și 2-aminotiofen-3-carbonitril (0,056 g, 0,45 mmol) în anh. THF (20 ml) sub Ar. Adăugarea a fost făcută inițial la tc și după 5 minute la 35 °C. Încălzirea a fost continuată la 35 °C timp de 1 oră înainte ca amestecul de reacție a fost răcit la tc, a fost stins cu soluție apoasă de NH₄Cl și concentrat sub presiune redusă. Purificarea prin RP HPLC a dat N-(3-cianotiofen-2-il)-2-(5-(4-metilpiperazin-1-carbonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetamidă*TFA ca solid maro deschis (82 mg, 35%). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,96 (s, 1H), 7,89 (d, J=8,5 Hz, 1H), 7,68 (dd, J=8,4, 1,4 Hz, 1H), 7,09 - 7,14 (m, 2 H), 3,25 - 3,81 (m, 8 H), 2,97 (s, 3 H).
- Etapa 2. Produsul rezultat din reacția anterioară a fost filtrat prin Porapak (2 g, folosind MeOH apoi NH₃ 2 M în MeOH) și uscat. O soluție THF anh (12 ml) a materialului (0,055 g, 0,13 mmol) sub Ar a fost tratată cu LiHMDS (1,0 M în THF, 0,7 ml, 0,7 mmol) timp de 3 minute la tc, agitată timp de 10 minute și încălzită la 45 °C timp de 95 min. Reacția a fost apoi răcită la tc, a fost stinsă cu soluție apoasă de NH₄Cl, concentrată sub presiune redusă și purificată prin HPLC preparativă.
- Filtrarea prin Porapak (2 g) și triturarea cu CH₂Cl₂, se obține compusul din titlu sub forma unui solid de culoare galben deschis de 3,6 mg (3%). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,58 - 7,77 (m, 2 H), 7,51 (d, J=5,80 Hz, 1H), 7,30 (dd, J=8,30, 1,30 Hz, 1 H), 7,14 (d, J=5,80 Hz, 1H), 3,53 - 3,92 (m, 4 H), 2,48 - 2,70 (m, 4 H), 2,43 (s, 3 H). MS ESI [M+H]⁺ 409,2, calculat pentru [C₂₀H₂₀N₆O₂S +H]⁺ 409,2.

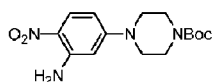
Exemplu/nume IUPAC	Structură	Randament; descriere; sare
A61: 4-amino-5-(6-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		19 mg (7%); Solid portocaliu-cafeniu; TFA
Reactivi (metoda A3): Etapa 1: 2-(5-metil-6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (0,17 g, 0,53 mmol), 2-aminotiofen-3-carbonitril (72 mg, 0,53 mmol), LDA (1,0 M în THF/hexani, 1,7 ml, 1,7 mmol) în THF anh (12 ml). Etapa 2: LiHMDS (1,0 M în THF, 1,7 ml, 1,7 mmol) în THF anh (20 ml).		
¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,48 (d, J=5,77 Hz, 1H), 7,44 (s, 1 H), 7,38 (s, 1H), 7,12 (d, J=5,77 Hz, 1H), 3,58 - 3,59 (m, 2 H), 3,43-3,23 (m., 4 H), 3,07 - 3,22 (m, 2 H), 3,01 (s, 3 H), 2,45 (s, 3 H). MS ESI [M+H] ⁺ 395,1, calculat pentru [C ₂₀ H ₂₂ N ₆ OS +H] ⁺ 395,2.		
A62: 4-amino-5-(5-(morfolin-4-carbonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		6,5 mg (2%); solid alb; bază liberă
Reactivi (metoda A3): Etapa 1: 2-(6-(morfolină-4-carbonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (0,22 g, 0,70 mmol) și 2-aminotiofen-3-carbonitril (84 mg, 0,70 mmol), LiHMDS (1,0 M în THF, 3,5 ml, 3,5 mmol) în anh. THF (24 ml). Etapa 2: LiHMDS (1,0 M în THF, 1,2 ml, 1,2 mmol) în THF anh (20 ml).		
¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,63 - 7,76 (m, 2 H), 7,48 - 7,52 (m, 1H), 7,31 (dd, J=8,30, 1,50 Hz, 1H), 7,14 (d, J=5,77 Hz, 1H), 3,58 - 3,88 (m, 8 H). MS ESI [M+H] ⁺ 396,2, calculat pentru [C ₁₉ H ₁₇ N ₅ O ₃ S +H] ⁺ 396,1		

A63: 7-(ciclopropilamino)-6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]-piridin-5(4H)-un 2,2,2-trifluoroacetat



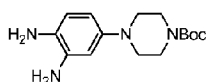
O suspensie de 7-hidroxi-6-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5(4H)-onă (58 mg, 0,152 mmol) în DCM anhidru (1 ml) s-a adăugat TiF_2O (0,55 ml, 0,916 mmol) prin picurare, la tc. Amestecul de reacție rezultat a fost agitat la tc peste noapte înainte de adăugarea de ciclopropanamină (100 mg, 1,83 mmol) la 0 °C prin picurare. Amestecul de reacție rezultat a fost agitat la 40 °C peste noapte și diluat cu DCM urmat de spălare cu soluție saturată de NaHCO_3 . Stratul organic a fost uscat pe Na_2SO_4 , filtrat și concentrat până la uscare. Reziduul a fost dizolvat în MeOH și trecut prin PoraPak urmat de îndepărtarea solventului sub presiune redusă. Produsul brut a fost purificat prin HPLC preparativ pentru a da compusul din titlu ca un solid galben (5 mg, randament 6%). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,98 (d, $J=5,5$ Hz, 1H), 7,61 (d, $J=9,0$ Hz, 1H), 7,26 (d, $J=2,0$ Hz, 1H), 7,21 (dd, $J=8,4$, 2,0 Hz, 1H), 7,10 (d, $J=5,5$ Hz, 1H), 3,92-3,84 (m, 2H), 3,71-3,62 (m, 2H), 3,41-3,36 (m, 2H), 3,20-3,10 (m, 2H), 3,09-3,03 (m, 1H), 3,01 (s, 3H), 1,04-0,96 (m, 2H), 0,93-0,89 (m, 2H); MS ESI $[\text{M}+\text{H}]^+$ 421,2, calculat pentru $[\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{OS}+\text{H}]^+$ 421,2.

A64: 4-amino-5-(6-(piperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă
4-(3-amino-4-nitrofenil)piperazin-1-carboxilat de terț-butil



Un amestec de 5-clor-2-nitroanilină (2,5 g, 14,48 mmol), piperazin-1-carboxilat de terț-butil (3,24 g, 17,38 mmol) și K_2CO_3 (4,0 g, 28,96 mmol) în DMSO (100 ml) s-a agitat la 100 °C timp de 3 zile. H_2O (150 ml) a fost apoi adăugat cu agitare, filtrat cu aspirație, spălat cu H_2O și uscat pentru a da compusul din titlu sub forma unui solid de culoare brună (2,6 g, 57%). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8,04 (d, $J=9,79$ Hz, 1 H), 6,27 (dd, $J=9,66$, 2,64 Hz, 1 H), 6,21- 6,11 (m, 2 H), 5,95 (d, $J=2,51$ Hz, 1 H), 3,61- 3,54 (m, 4 H), 3,40 - 3,34 (m, 4 H), 1,50 (s, 9 H); MS ESI $[\text{M}+\text{H}]^+$ 323,2, calculat pentru $[\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_4+\text{H}]^+$ 323,2.

4-(3,4-diaminofenil)piperazin-1-carboxilat de terț-butil

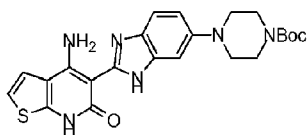


La o suspensie de 4-(3-amino-4-nitrofenil)piperazin-1-carboxilat de terț-butil (2,6 g, 8,04 mmol) în MeOH (150 ml) s-a adăugat 10% Pd/C (130 mg, 5% gr.). Amestecul rezultat a fost hidrogenat sub balon de H_2 O/N. Amestecul de reacție rezultat a fost filtrat, concentrat și uscat pentru a da compusul din titlu sub forma unui solid maro închis (2,29 g, 97%). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 6,66 (d, $J=8,28$ Hz, 1H), 6,39 (d, $J=2,51$ Hz, 1H), 6,34 (dd, $J=8,28$, 2,51 Hz, 1 H), 3,60 - 3,53 (m, 4 H), 3,46- 3,23 (m, 4 H), 3,02- 2,95 (m, 4 H), 1,49 (s, 9 H); MS ESI $[\text{M}+\text{H}]^+$ 293,1, calculat pentru $[\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_2+\text{H}]^+$ 293,2.

4-(2-(2-etoxi-2-oxoetil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piperazin-1-carboxilat de terț-butil

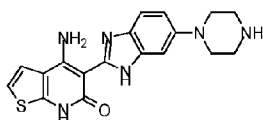
La o soluție de 4-(3,4-diaminofenil)piperazin-1-carboxilat de terț-butil (100 mg, 0,34 mmol) în EtOH (3 ml) s-a adăugat clorhidrat 3-etoxi-3-iminopropionat de etil (190 mg, 0,68 mmol). Amestecul rezultat a fost încălzit la 60 °C timp de 3 ore. După îndepărtarea solvenților, a fost diluat cu DCM (10 ml), se ajustează pH $\approx$ 8 cu o soluție saturată de NaHCO_3 și separat. Stratul apos a fost extras cu DCM (10 mLx2) și extractele combinate au fost uscate pe NaSO_4 , apoi concentrate și purificate prin cromatografie rapidă (gradient: 100% EtOAc, apoi MeOH/DCM 0-20%) pentru a da compusul din titlu ca solid portocaliu închis (116 mg, 87%). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,49 - 7,40 (m, 1H), 7,15 - 7,10 (m, 2 H), 4,22 (q, $J=7,11$ Hz, 2 H), 3,95 (s, 1H), 3,61 (br. s., 4 H), 3,11 (br. s., 4 H), 1,50 (s, 9 H), 1,28 (t, $J=7,15$ Hz, 3 H); MS ESI $[\text{M}+\text{H}]^+$ 389,2, calculat pentru $[\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_4+\text{H}]^+$ 389,2.

4-(2-(4-amino-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-5-il)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piperazină-1-carboxilat de terț-butil



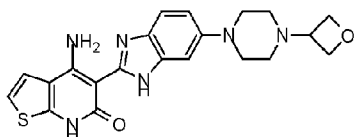
Conform metodei generale A, la o soluție de 2-amino-4-etoxitiofen-3-carbonitril (64 mg, 0,52 mmol), 4-(2-(2-etoxi-2-oxoetil)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piperazin-1-carboxilat de terț-butil (200 mg, 0,52 mmol), LiHMDS (1 M în THF, 2,0 ml, 2,06 mmol) au fost utilizate pentru a genera compusul din titlu ca un solid maro deschis (88 mg, 35%). ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,72 - 12,61 (m, 1H), 12,13 - 12,02 (m, 1H), 10,72 - 10,55 (m, 1H), 8,01 - 7,93 (m, 1H), 7,57 (d, *J*=5,62 Hz, 1H), 7,52 - 7,43 (m, 1H), 7,24 - 7,10 (m, 2 H), 6,93 - 6,87 (m, 1H), 3,52 - 3,44 (m, 4 H), 3,07 - 3,00 (m, 4 H), 1,45 - 1,40 (m, 9 H); MS ESI [M+H]⁺ 467,2, calculat pentru [C₂₃H₂₆N₆O₃S+H]⁺ 467,2.

4-amino-5-(6-(piperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)thieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă



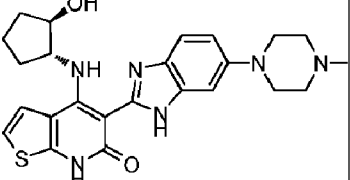
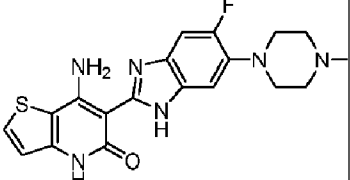
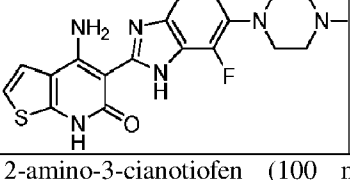
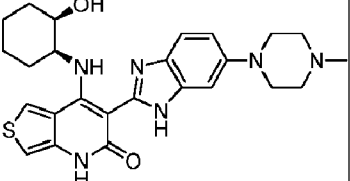
Un amestec de 4-(2-(4-amino-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-5-il)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)piperazin-1-carboxilat de terț-butil (83 mg, 0,178 mmol) în TFA (1 ml) a fost agitat la tc timp de 2 ore înainte de concentrare. Reziduul a fost dizolvat în MeOH (20 ml) și trecut prin PoraPak apoi concentrat pentru a da compusul din titlu sub forma unui solid galben (45 mg, 69%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,65 - 12,58 (m, 1H), 10,77 - 10,61 (m, 1H), 8,03 - 7,94 (m, 1H), 7,59 (d, *J*=5,77 Hz, 1H), 7,54 - 7,42 (m, 1H), 7,19 - 7,10 (m, 2 H), 6,92 - 6,86 (m, 1H), 3,09 - 3,01 (m, 4 H), 2,94 - 2,88 (m, 4 H); semnalul datorat NH₂ nu poate fi detectată cu ușurință. MS ESI [M+H]⁺ 367,2, calculat pentru [C₁₈H₁₈N₆O₃S+H]⁺ 367,1.

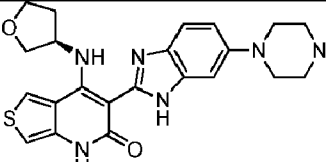
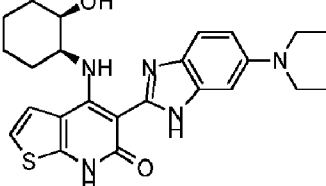
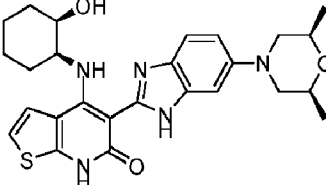
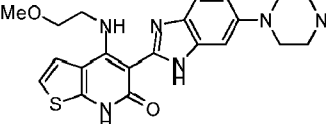
A65: 4-amino-5-(6-(4-(oxetan-3-il)piperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)thieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă

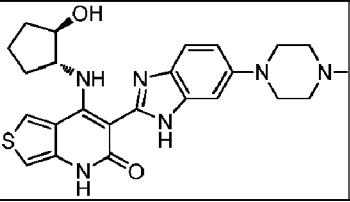
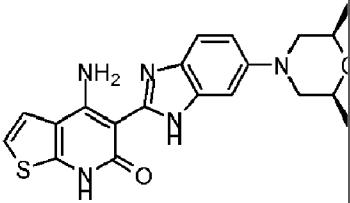
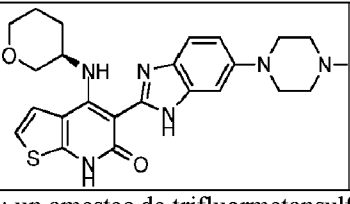


Un amestec de 4-amino-5-(6-(piperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)thieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă (45 mg, 0,123 mmol), oxetan-3-onă (8,8 mg, 0,123 mmol) și NaBH(OAc)₃ (120 mg, 0,552 mmol) în DCE (2 ml) au fost agitate la tc peste noapte, apoi filtrate. Filtratul a fost concentrat și purificat prin HPLC prep. pentru a da compusul din titlu sub formă de sare TFA sub formă de solid galben (50 mg, 76%). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,66 (d, *J*=9,03 Hz, 1H), 7,51 (d, *J*=5,77 Hz, 1H), 7,29 (t, *J*=8,91 Hz, 2 H), 7,18 (d, *J*=6,02 Hz, 1 H), 4,98 - 4,87 (m, 4H), 4,54 - 4,45 (m, 1 H), 3,63 - 3,40 (m, 8 H); MS ESI [M+H]⁺ 423,2, calculat pentru [C₂₁H₂₂N₆O₂S+H]⁺ 423,2.

Exemplu/nume IUPAC	Structură	Randament; descriere; sare
A66: 4-(((1S,2S)-2-hidroxiciclopentil)amino)-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)thieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		35 mg (23%); solid maro; 2 HCl
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și 6-(4-metil-piperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (0,22 g, 0,29 mmol), (1S,2S)-2-aminociclopenta-1-ol (0,12 g, 1,2 mmol), DMF (5 ml). MS ESI [M-CF ₃ O ₂ S+2H] ⁺ 585,4, calculat pentru [C ₃₂ H ₃₆ N ₆ O ₃ S+H] ⁺ 585,3.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de trifluormetansulfonat de 2-(4-(((1S,2S)-2-hidroxiciclopentil)amino)-7-(4-metoxibenzil)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-5-il)-5- și 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-1-il (brut, 0,28 mmol), TFA (5 ml) și HCl conc. (1 ml). ¹ H RMN (400MHz, CD ₃ OD) δ =7,75 - 7,60 (m, 2 H), 7,41 (br. s, 1 H), 7,30 (s, 1 H), 7,19 (d, <i>J</i> =		

5,0 Hz, 1 H), 4,15 - 4,04 (m, 1H), 4,02 - 3,89 (m, 2 H), 3,73 - 3,61 (m, 2 H), 3,28 - 3,14 (m, 5 H), 3,00 (br. s., 3 H), 1,99 - 1,84 (m, 2 H), 1,76- 1,46 (m, 3 H), 1,43 - 1,31 (m, 1H); MS ESI [M+H] ⁺ 465,3, calculat pentru [C ₂₄ H ₂₈ N ₆ O ₂ S+H] ⁺ 465,2.		
A67: 4-(((1R,2R)-2-hidroxiciclopentil)amino)-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		45 mg (29%); solid maro; 2 HCl
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și 6-(4-metil-piperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (0,22 g, 0,29 mmol), (1R,2R)-2-aminociclopenta-1-ol (0,12 g, 1,2 mmol), DMF (5 ml). MS ESI [M-CF ₃ O ₂ S+2H] ⁺ 585,4, calculat pentru [C ₃₂ H ₃₆ N ₆ O ₃ S+H] ⁺ 585,3.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de trifluormetansulfonat de 2-(4-(((1R,2R)-2-hidroxiciclopentil)amino)-7-(4-metoxibenzil)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-5-il)-5-și 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-1-il (brut, 0,28 mmol), TFA (5 ml) și HCl conc. (1 ml). ¹ H RMN (400MHz, CD ₃ OD) δ = 7,76 - 7,62 (m, 2 H), 7,45 - 7,36 (m, 1H), 7,35 - 7,26 (m, 1H), 7,22 - 7,15 (m, 1H), 4,14- 4,05 (m, 1H), 4,02 - 3,89 (m, 2 H), 3,74- 3,62 (m, 2 H), 3,27 - 3,17 (m, 5 H), 3,00 (br. s., 3 H), 2,00 - 1,83 (m, 2 H), 1,74- 1,47 (m, 3 H), 1,45 - 1,32 (m, 1H); MS ESI [M+H] ⁺ 465,3, calculat pentru [C ₂₄ H ₂₈ N ₆ O ₂ S+H] ⁺ 465,2.		
A68: 7-amino-6-(5-fluor-6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,2-b]piridin-5 (4H)-onă		91 mg (32%); solid maro; 2 HCl
Reactivi (metoda generală A1): 3-amino-2-cianotiofen (75 mg, 0,6 mmol), 2-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (193 mg, 0,6 mmol), LDA (3 ml, 3 mmol), THF (8 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8,01 (d, J=5,5 Hz, 1H), 7,59 (d, J=11,0 Hz, 1H), 7,49 (d, J=7,3 Hz, 1H), 7,11 (d, J=5,3 Hz, 1H), 3,71-3,68 (m, 4H), 3,46-3,41 (m, 2H), 3,23-3,31 (m, 2H), 3,03 (s, 3H); MS ESI [M+H] ⁺ 399,2, calculat pentru [C ₁₉ H ₁₉ N ₆ OS +H] ⁺ 399,4.		
A69: 4-amino-5-(7-fluor-6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		49 mg (13%); solid maro; 2 HCl
Reactivi (metoda generală A1): 2-amino-3-cianotiofen (100 mg, 0,8 mmol), 2-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (258 mg, 0,8 mmol), LDA (4 ml, 4 mmol), THF (10 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,57-7,51 (m, 2H), 7,39-7,35 (m, 1H), 7,20 (d, J=5,8 Hz, 1H), 3,69-3,36 (m, 4H), 3,47 - 3,37 (m, 4H), 3,35 (s, 2H), 3,03 (s, 3H); MS ESI [M+H] ⁺ 399,2, calculat pentru [C ₁₉ H ₁₉ N ₆ OS+H] ⁺ 399,4.		
A70: 4-(((1S,2R)-2-hidroxiciclohexil)amino)-3-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,4-b]piridin-2(1H)-onă		40 mg (22%); solid galben; 2 HCl
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metil-piperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (0,26 g, 0,34 mmol), (1R,2S)-2-aminociclohexan-1-ol (0,1 g, 0,85 mmol), DMF (5 ml). MS ESI [M+H] ⁺ 731,3, calculat pentru [C ₃₄ H ₃₇ F ₃ N ₆ O ₅ S ₂ +H] ⁺ 731,2.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de 4-(((1S,2R)-2-hidroxiciclohexil)amino)-1-(4-metoxibenzil)-3-(5- și 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,4-b]piridin-2(1H)-onă (220 mg brut), TFA (5 ml) și HCl concentrat (2 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8,43 (d, J=3,3 Hz, 1H), 7,73 (d, J=9,0 Hz, 1H), 7,44 (dd, J=9,0, 2,2 Hz, 1H), 7,34 (d, J=2,3 Hz, 1H), 7,01 (d, J=3,0 Hz, 1H), 4,03-3,94 (m, 3H), 3,74-3,65 (m, 2H), 3,42-3,35 (m, 3H), 3,31-3,19 (m, 3H), 3,03 (s, 3H), 1,87-57 (m, 5H), 1,35-1,17 (m, 2H); MS ESI [M+H] ⁺ 479,4, calculat pentru [C ₂₅ H ₃₀ N ₆ O ₂ S+H] ⁺ 479,2.		

A71: (R)-3-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4-((tetrahidrofuran-3-il)amino)tieno[3,4-b]piridin-2(1H)-onă		6 mg (3%); solid galben; 2 HCl
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metil-piperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (0,19 g, 0,26 mmol), (R)-3-aminotetrahidrofuran (0,06 g, 0,64 mmol), DMF (5 ml). MS ESI [M+H] ⁺ 703,3, calculat pentru [C ₃₂ H ₃₃ F ₃ N ₆ O ₅ S ₂ + H] ⁺ 703,2.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de (R)-3-(5 și (6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4-((tetrahidrofuran-3-il)amino)tieno[3,4-b]piridin-2(1H)-onă (brut, 165 mg), TFA (4 ml) și HCl concentrat (1,5 ml). ¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8,54 (d, J=3,3 Hz, 1H), 7,74 (d, J=9,5 Hz, 1H), 7,45 (dd, J=9,0, 2,3 Hz, 1H), 7,34 (d, J=2,01 Hz, 1H), 7,00 (d, J=3,3 Hz, 1H), 4,02-3,91 (m, 3H), 3,85 (dd, J=9,5, 3,3 Hz, 1H), 3,78-3,54 (m, 5H), 3,43-3,35 (m, 2H), 3,28-3,19 (m, 2H), 3,03 (s, 3H), 2,11-1,94 (m, 2H); MS ESI [M+H] ⁺ 451,3, calculat pentru [C ₂₃ H ₂₆ N ₆ O ₂ S+H] ⁺ 451,2.		
A72: 4-(((1S,2R)-2-hidroxiciclohexil)amino)-5-(6-morfolino-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		19 mg (7%); solid maro; 2 HCl
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 4-(4-metoxibenzil)-6-(5 și 6-morfolino-1-((trifluor-metil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-7-il (brut, 0,51 mmol), (1R,2S)-2-aminociclohexanol (0,23 g, 2,1 mmol), DMF (6 ml). MS ESI [M-CF ₃ O ₂ S+2H] ⁺ 586,5, calculat pentru [C ₃₂ H ₃₅ N ₅ O ₄ S+H] ⁺ 586,2.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de trifluormetansulfonat de 2-(4-(((1S,2R)-2-hidroxiciclohexil)amino)-7-(4-metoxibenzil)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-5-il)-5 și 6-morfolino-1H-benzo[d]imidazol-1-il (0,38, 0,51 mmol), TFA (5 ml) și HCl conc. (1 ml). ¹ H RMN (400MHz, CD ₃ OD) δ = 7,77 - 7,69 (m, 1 H), 7,64- 7,57 (m, 1H), 7,54- 7,45 (m, 2 H), 7,24- 7,15 (m, 1H), 4,09 - 3,96 (m, 5 H), 3,60 - 3,44 (m, 5 H), 1,98 - 1,52 (m, 6 H), 1,48 - 1,22 (m, 2 H); MS ESI [M+H] ⁺ 466,4, calculat pentru [C ₂₄ H ₂₇ N ₅ O ₃ S+ H] ⁺ 466,2.		
A73: 5-(6-((2S,6R)-2,6-dimetilmorfolino)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4-(((1S,2R)-2-hidroxiciclohexil)amino)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		8 mg (6%); solid maro; TFA
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): trifluormetansulfonat de 5-(5 și (6-((2S,6R)-2,6-dimetilmorfolino)-1-((trifluormetil)sulfonil)oxi)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-7-(4-metoxibenzil)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (brut, 0,23 mmol), (1R,2S)-2-aminociclohexanol (0,26 g, 0,23 mmol), DMF (1 ml). MS ESI [M+H] ⁺ 746,5, calculat pentru [C ₃₅ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₆ S ₂ + H] ⁺ 746,2.		
Etapa 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de 5-(6-((2S,6R)-2,6-dimetilmorfolino)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4-(((1S,2R)-2-hidroxiciclohexil)amino)-7-(4-metoxibenzil)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă și trifluormetansulfonat de 5-(6-((2S,6R)-2,6-dimetilmorfolino)-2-(4-(((1S,2R)-2-hidroxiciclohexil)amino)-7-(4-metoxibenzil)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-5-il)-1H-benzo[d]imidazol-1-il (0,094 g, 0,13 mmol), TFA (3 ml) și HCl conc. (1 ml). ¹ H RMN (400MHz, CD ₃ OD) δ 7,69 (d, J = 9,0 Hz, 1 H), 7,56 - 7,48 (m, 2 H), 7,40 (d, J = 10,0 Hz, 1 H), 7,20 (d, J = 6,0 Hz, 1 H), 4,10 - 4,04 (m, 1 H), 4,04- 3,89 (m, 3 H), 3,67 (d, J=11,3 Hz, 2 H), 2,98 - 2,86 (m, 2 H), 2,02 - 1,89 (m, 2 H), 1,86- 1,68 (m, 3 H), 1,68 - 1,58 (m, 1H), 1,52 - 1,40 (m, 1 H), 1,39 - 1,33 (m, 1 H), 1,31 (d, J=6,3 Hz, 6 H); MS ESI [M+H] ⁺ 494,5, calculat pentru [C ₂₆ H ₃₁ N ₅ O ₃ S+ H] ⁺ 494,2.		
A74: 4-((2-metoxietil)amino)-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		55 mg (33%); solid galben inchis; TFA
Etapa 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și 6-(4-metil-piperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-		

dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (brut, 0,30 mmol), 2-metoxietanamină (0,10 ml, 1,2 mmol), DMF (4 ml). MS ESI [M+H] ⁺ 691,4, calculat pentru [C ₃₁ H ₃₃ F ₃ N ₆ O ₅ S ₂ + H] ⁺ 691,2.		
Etapă 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de trifluormetansulfonat de 2-(7-(4-metoxibenzil)-4-((2-metoxietil)amino)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-5-il)-5-și 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-1-il (brut, 0,30 mmol), TFA (5 ml) și HCl conc. (0,5 ml). ¹H RMN (400MHz, CD₃OD) δ 7,68 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,62 - 7,56 (m, 1H), 7,34 (d, J=9,0 Hz, 1H), 7,29 (d, J=1,8 Hz, 1H), 7,20 (d, J=6,0 Hz, 1H), 3,99 - 3,86 (m, 2 H), 3,76- 3,64 (m, 2 H), 3,58 (d, J=5,3 Hz, 2 H), 3,42 - 3,34 (m, 7 H), 3,25 - 3,12 (m, 2 H), 3,02 (s, 3 H); MS ESI [M+H]⁺ 439,5, calculat pentru [C₂₂H₂₆N₆O₂S+ H]⁺ 439,2.		
A75: 4-(((1R,2R)-2-hidroxiciclopentil)amino)-3-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,4-b]piridin-2(1H)-onă		22 mg (16%); solid galben; 2 HCl
Etapă 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și/sau 6-(4-metil-piperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (0,19 g, 0,26 mmol), (1R,2R)-2-aminociclopentanol (0,06 g, 0,64 mmol), DMF (5 ml). MS ESI [M+H]⁺ 717,2, calculat pentru [C₃₃H₃₅F₃N₆O₅S₂+ H]⁺ 717,2.		
Etapă 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de 4-(((1R,2R)-2-hidroxiciclopentil)amino)-1-(4-metoxibenzil)-3-(5- și 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[3,4-b]piridin-2(1H)-onă (brut, 165 mg), TFA (4 ml) și HCl concentrat (1 ml). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,59 (d, J=3,3 Hz, 1H), 7,72 (d, J=9,0 Hz, 1H), 7,44 (dd, J=9,0, 2,3Hz, 1H), 7,33 (d, J=2,0 Hz, 1H), 7,00 (d, J=3,3 Hz, 1H), 4,19-4,12 (m, 1H), 4,00-3,97 (m, 2H), 3,74-3,65 (m, 2H), 3,43-3,35 (m, 2H), 3,30-3,21 (m, 2H), 3,19-3,10 (m, 1H), 3,03 (s, 3H), 1,99-1,87 (m, 2H), 1,76-1,65 (m, 2H), 1,57-1,44 (m, 1H), 1,44-1,28 (m, 1H); MS ESI [M+H]⁺ 465,4, calculat pentru [C₂₄H₂₈N₆O₂S+H]⁺ 465,2.		
A76: 4-amino-5-(6-((2S,6R)-2,6-dimetilmorfolino)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		49 mg (31%); solid galben-verzui; TFA
Reactivi (metoda generală A2): 2-(6-((2S,6R)-2,6-dimetilmorfolino)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)acetat de etil (0,10 g, 0,32 mmol), 2-aminotiofen-3-carbonitril (0,32 g, 0,32 mmol), LDA (1,0 M in THF/hex, 1,1 ml, 1,1 mmol), THF (1 ml), 45 °C, 1,5 h. S-a obținut 50 mg de amestec neciclizat și ciclizat care a fost recicizat cu KOBu^t (1,0 M in THF, 1,3 ml, 1,3 mmol) in THF (10 ml), 45 °C, 2 ore; ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,69 (d, J=9,5 Hz, 1H), 7,52 (d, J=6,0 Hz, 1H), 7,49 - 7,45 (m, 1H), 7,37 (d, J=9,0 Hz, 1H), 7,19 (d, J=5,8 Hz, 1H), 4,03 - 3,92 (m, 2 H), 3,71- 3,61 (m, 2 H), 2,92 - 2,77 (m, 2 H), 1,31 (d, J=6,3 Hz, 6 H); MS ESI [M+H]⁺ 396,3, calculat pentru [C₂₀H₂₁N₅O₂S+H]⁺ 396,1.		
A77: (R)-5-(6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-4-(((tetrahidro-2H-piran-3-il)amino)tieno[2,3-b]piridin-6(7H)-onă		66 mg (38%); solid galben; TFA
Etapă 1: Reactivi (metoda generală C): un amestec de trifluormetansulfonat de 7-(4-metoxibenzil)-5-(5 și 6-(4-metil-piperazin-1-il)-1-((trifluormetil)sulfonil)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-6-oxo-6,7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-4-il (brut, 0,30 mmol), (R)-tetrahidro-2H-piran-3-amină (brută în DCM, 1,5 mmol), DMF (5 ml). MS ESI [M+H]⁺ 717,4, calculat pentru [C₃₃H₃₅F₃N₆O₅S₂+ H]⁺ 717,2.		
Etapă 2: Reactivi (metoda generală D): un amestec de trifluormetansulfonat de (R)-2-(7-(4-metoxibenzil)-6-oxo-4-(((tetrahidro-2H-piran-3-il)amino)-6, 7-dihidrotieno[2,3-b]piridin-5-il)-5- și 6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-1-il (brut, 0,30 mmol), TFA și HCl conc. ¹H RMN (400MHz, CD₃OD) δ 7,67 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,56 (d, J=5,8 Hz, 1H), 7,37 - 7,26 (m, 2 H), 7,21 (d, J=6,0 Hz, 1H), 4,00 - 3,80 (m, 3 H), 3,75 - 3,59 (m, 3 H), 3,53 - 3,41 (m, 2 H), 3,40 - 3,34 (m, 2H), 3,29 - 3,11 (m, 3 H), 3,01 (s, 3 H), 2,14- 1,96 (m, 1H), 1,83 - 1,66 (m, 2 H), 1,42 - 1,25 (m, 1H); MS ESI [M+H]⁺ 465,3, calculat pentru [C₂₄H₂₈N₆O₂S+ H]⁺ 465,2.		

Exemplul B: Test de Inhibare HPK1

HPK1 activ (MAP4K1) a fost achiziționat ca o fuziune GST N-terminală a HPK1 uman (aa 1-346) de la Invitrogen (cat # PV6355). Activitatea HPK1 a fost măsurată utilizând un sistem indirect de detectare ELISA. GST-HPK1 (0,6 nM) a fost incubat în prezența 12 μM ATP (Sigma cat # A7699), 5 mM MOPS (pH 7,2), 2,5 mM β-glicerol-fosfat, 5 mM MgCl₂, 0,4 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0,05 mM DTT, într-o placă de microtitrare cu 96 de godeuri, acoperită cu 0,5 μg/godeu de proteină bazică mielină bovină (MBP)(Millipore, cat # 13-110). Reacția a fost lăsată să se desfășoare timp de 30 de minute, urmată de 5 spălări ale plăcii cu Tampon de Spălare (soluție salină tamponată cu fosfat suplimentată cu 0,2% Tween 20) și incubare timp de 30 de minute cu o diluție de 1:3000 a anticorp policlonal anti-fosfo-treonină de iepure (Semnalizare Celulară cat # 9381). Placa a fost spălată de 5 ori cu tampon de spălare, incubată timp de 30 de minute în prezența conjugatului peroxidazei din hrean de capră anti-iepure (BioRad cat # 1721019, concentrație 1:3000), spălată de încă 5 ori cu tampon de spălare și incubată în prezența substratului TMB (Sigma cat # T0440). Reacția colorimetrică a fost lăsată să continue timp de 5 minute, urmată de adăugarea de soluție de stopare (0,5 NH₂SO₄) și cuantificate prin detecție la 450 nm cu un cititor de plăci monocromatic (Molecular Devices M5).

Inhibarea compusului a fost determinată fie la o concentrație fixă (10 μM), fie la o concentrație variabilă de inhibitor (de obicei 50 μM la 0,1 μM într-o titrare a răspunsului la doză de 10 puncte). Compușii au fost pre-incubați în prezența enzimei timp de 15 minute înainte de adăugarea de ATP și activitatea rămasă cuantificată utilizând testul de activitate descris mai sus. % Inhibarea unui compus a fost determinată folosind următoarea formulă: % inhibare = 100 x (1 - (valoare experimentală - valoare de fundal)/(martor de activitate ridicată - valoare de fundal)). Valoarea IC₅₀ a fost determinată folosind potrivire a curbei logistice neliniară în 4 puncte (XLfit4, IDBS), cu formula: $A + (B / (1 + ((x/C)^D)))$, unde A = valoarea de fundal, B = intervalul, C = punctul de inflexiune, D = parametrul de potrivire a curbei.

Exemplul C: Test Inhibare FLT3

Inhibarea compusului FLT3 și LCK a fost determinată utilizând Kitul de Testare a Kinazei cu Z'-LYTE bazat pe FRET cu peptidă Tirozină 2 ca substrat (Invitrogen cat # PV3191). Testul kinazei FLT3 a fost efectuat conform specificațiilor sugerate de producător cu o concentrație de ATP de 940 μM și 1 nM FLT3 (Invitrogen cat # PV3182) și 180 μM ATP și 25 nM LCK (Invitrogen cat # P3043) pentru reacția LCK kinază. Valorile de % inhibare au fost determinate conform indicațiilor producătorului și valorile IC₅₀ au fost obținute folosind o potrivire a curbei logistice neliniară în 4 puncte (XLfit4, IDBS).

În Tabelul 1 de mai jos, intervalele de valori IC₅₀ pentru compușii exemplificativi sunt date. Intervalele IC₅₀ sunt indicate ca "A", "B" și "C", pentru valori mai mici sau egale cu 0,05 μM; cele mai mari de 0,05 μM și mai mici sau egale cu 0,5 μM; și cele mai mari de 0,5 μM, respectiv.

Tabelul 1: Date de Inhibare ale HPK1, Lck și Flt3

Exemplu	Interval IC ₅₀		
	HPK1	Lck	Flt3
A1	A	B	A
A2	A	B	A
A3	C	-	-
A4	A	B	A
A5	C	C	-
A6	B	-	-
A7	A	B	A
A8	A	B	A
A9	A	A	A
A10	A	B	A
A11	A		
A12	A	-	-
A13	A	B	A
A14	A	A	A
A15	A	A	A
A16	A	-	-
A17	A	A	A
A18	A	B	A
A19	B		
A20	C		

Exemplu	Interval IC ₅₀		
	HPK1	Lck	Flt3
A21	A	C	B
A22	A	B	A
A23	A	A	A
A24	A	A	A
A25	A	-	-
A26	A	-	-
A27	A	A	A
A28	A	-	-
A29	A	B	-
A30	A	A	A
A31	A	B	A
A32	C	A	-
A33	A	B	A
A34	A	A	A
A35	A	A	A
A36	A	A	A
A37	A	A	A
A38	A	A	A
A39	A	A	A
A40	A	A	A
A41	A	A	A
A42	A	A	A
A43	A	B	A
A44	A	A	A
A45	A	A	A
A46	A	B	A
A47	A	-	-
A48	A	A	A
A49	C	-	-
A50	C	C	-
A51	A	-	-
A52	A	A	A
A53	A	A	A
A54	A	B	A
A55	A	B	A
A56	A	-	-
A57	A	B	A
A58	A	B	A
A59	-	-	-
A60	B	B	-
A61	A	B	A
A62	B	-	-
A63	A	-	-
A64	A	B	A
A65	A	B	A
A66	A	A	A
A67	A	B	A
A68	A	A	A
A69	-	B	A
A70	-	A	A
A71	A	A	A
A72	A	C	A
A73	B	-	-
A74	A	-	-
A75	A	-	-
A76	A	-	-

Exemplu	Interval IC ₅₀		
	HPK1	Lck	Flt3
A77	A	-	-

Exemplul D: Teste de Fosforilare in vitro

Celulele Jurkat E6.1 au fost obținute din American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA) și menținute conform instrucțiunilor furnizorului. Celulele au fost spălate de trei ori și infometate în mediu RPMI 1640 suplimentat cu 0,5% ser fetal de vițel timp de 18 ore la 37 °C. Celulele infometate de ser au fost pretratate cu concentrația indicată de inhibitor timp de 4 ore înainte de stimulare cu 10 μg/ml anticorp α-CD3 (BioLegend, Inc., San Diego, CA) timp de 10 minute la 37 °C. Celulele au fost spălate o dată în soluție salină tamponată cu fosfat (pH 7,4) conținând 10 mm pirofosfat de sodiu, 10 mm fluorură de sodiu, 10 mm EDTA și 1 mm ortovanadat de sodiu. Lizatele de proteine au fost preparate utilizând tampon de liză (RIPA) test radioimunoprecipitare cu răcire cu gheață. Un total de 100 μg de lizat celular a fost încărcat pe geluri Bis-Tris (Life Technologies, Carlsbad, CA) cu marker de masă moleculară de interval complet ca referință de dimensiune și rezolvat prin electroforeză SDS-PAGE. Proteinele au fost transferate în membrana PVDF (Millipore, Billerica, MA), blocate și sondate cu anticorpi pentru fosfo-SLP-76 (Ser376)(policlonal de iepure # 13177; Cell Signaling Technology Inc., Danvers, MA), SLP-76 (policlonal de iepure # 4958; Cell Signaling Technology Inc., Danvers, MA), phospho-ERK (monoclonal de șoarece sc-7383; Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, CA) și ERK1/2 (policlonal de iepure 06-182; Millipore, Billerica, MA). Anticorpii secundari au fost diluați 1 la 15.000 și incubați timp de 1 oră la t.c. Benzile de proteine au fost vizualizate și cuantificate folosind imagerul aproape infraroșu Odyssey (LI-COR, Lincoln, NE).

Tabelul 2 de mai jos enumeră efectele compușilor reprezentativi ai prezentei invenții împotriva fosforilării serinei 376 SLP-76 și fosforilării ERK1/2 T202/Y204 în celulele Jurkat E6.1 stimulate de α-CD3.

Tabelul 2. Efectele inhibitorilor HPK1 împotriva fosforilării serinei 376 SLP-76 și fosforilării ERK1/2 T202/Y204 în celulele Jurkat E6.1 stimulate de α-CD3.

Exemplu de Compus	SLP76 S376 Inhibare la Debutul-Substantiv* Fosforilării (μM)	ERK1/2 T202/Y204 Inhibare la Debutul Fosforilării (μM)
A1	0,3-1,0	> 3,0
A30	0,3-1,0	> 3,0
A43	0,1-0,3	> 3,0
A18	0,3-1,0	> 3,0
A10	1,0-3,0	> 3,0
A57	0,3-1,0	> 3,0
A23	0,3-1,0	> 3,0
A58	0,1-0,3	> 3,0
A34	1,0-3,0	3,0
A21	> 3,0	> 3,0
A37	0,1-0,3	1,0-3,0
*>75 % inhibare, estimată prin analiza imunoblotului		

Exemplul E: model xenogrefă de linie celulară Syngeneic CT26.

Linia celulară CT26 WT, care este o linie celulară de carcinom de colon indusă de N-nitrozo-N-metiluretan (NNMU), a fost obținută din American Type Culture Collection (ATCC CRL-2638, Manassas, VA, DC, SUA). Celulele au fost cultivate în mediu Roswell Park memorial Institute, denumit în mod obișnuit RPMI 1640 Medium, conținând 4,5 g/L glucoză, 0,11 g/L piruvat de sodiu, 1,5 g/L bicarbonat de sodiu, L-glutamină și 2,385 g/L HEPES plus 10% ser fetal bovin. Șoareci BALB/c femele în vârstă de șase până la opt săptămâni au fost cumpărați de la Jackson Laboratories și primiți și aclimatizați la Centrul de Resurse Animale MaRS-TMDT timp de 1 săptămână înainte de începerea experimentului. Șoarecii au fost hrăniți cu apă autoclavată ad libitum și Dieta de Laborator a Rozătoarelor (Harlan Teklad LM-485) constând din 19% proteine brute, 5% grăsimi brute și 5% fibre brute. Șoarecii au fost adăpostiți în cuști de microizolatori și menținuți într-un mediu cu un ciclu de lumină de 12 ore la 20-22 °C și 40-60% umiditate. În ziua de implantare, celulele CT26 au fost recoltate și re-suspendate cu ser RPMI1640 la o concentrație de 1x10⁷/ml și fiecare șoarece a fost injectat subcutanat cu un volum de 0,1 ml conținând 1x10⁶ celule CT26 în flancul din dreapta spate. După 6 zile, s-au format tumori palpabile cu un volum mediu de □65 mm³ (calculat utilizând formula: volumul tumorii = lățimea² x lungimea / 2). În

acest moment, animalele au fost separate în cinci grupuri de opt animale pe grup, astfel încât fiecare grup conținea animale care au tumori de dimensiuni medii similare și a fost inițiat tratamentul. Pentru dozare, Exemplul A1 a fost dizolvat în apă la o concentrație de 7,5 mg/ml sau 15 mg/ml pentru dozarea dozelor de 75 mg/kg și respectiv de 150 mg/kg. Ca un martor pozitiv și pentru a investiga activitatea combinatorie din Exemplul A1, a fost utilizat dozat un anticorp anti-PD1 IgG2b de șobolan (BioXcell (NH, SUA)). Cele cinci grupuri au fost tratate cu: i) 10 ml/kg apă QD pentru 21 de zile administrate prin gavaj oral (PO) plus 150 μg de anticorp martor izotip IgG2b de șobolan dozat prin injecție intraperitoneală (IP) în ziua 0, 3, 6 și 10 (brațul martor); ii) 150 μg de anticorp anti-PD-1 dozat prin injecție intraperitoneală (IP) în ziua 0, 3, 6 și 10; iii) 75 mg/kg din Exemplul A1 QD pentru 21 zile administrat PO; iv) 150 mg/kg din Exemplul A1 QD pentru 21 zile administrat PO v) 150 mg/kg din Exemplul A1 QD timp de 21 zile administrat PO plus 150 μg de anticorp anti-PD-1 dozat prin injecție intraperitoneală (IP) în ziua 0, 3, 6 și 10. Toxicitatea a fost evaluată prin măsurători ale greutatei corporale și observații clinice. Măsurătorile tumorilor și greutatea corporală au fost luate de trei ori pe săptămână. Procentul de inhibare a creșterii tumorale (TGI) a fost calculat prin formula:

$$\%TGI = 100 \times [1 - (TV_{\text{tratat}} - TV_{\text{martor}}) / (TV_{\text{tratat}} - TV_{\text{martor}})]$$

Inhibarea creșterii tumorale în ziua 21 este prezentată în figura 2. S-a observat un efect dependent de doză ca răspuns la tratamentul cu Exemplul A1, cu 75 mg/kg și 150 mg/kg QD inhibând creșterea tumorii cu 44% și, respectiv, 64%. În timp ce anticorpul anti-PD-1 singur a dus la un TGI mediu de 34%, atunci când este combinat cu 150 mg/kg QD Exemplul A1, TGI a crescut la 86%.

Conform University Health Network (UHN) Animal Use Protocols (AUPs), șoarecii din experimentele de eficacitate ar trebui sacrificați atunci când dimensiunea tumorii este peste 1500 mm³ sau dacă greutatea corporală a animalului scade sau dacă animalele prezintă semne clinice care necesită eutanasiere din motive umane. În acest studiu, compusul a fost bine tolerat, toate animalele câștigând în greutate pe parcursul studiului și niciun animal nu a fost eutanasiat din cauza semnelor clinice. O dimensiune a tumorii <1500 mm³ în ziua 21 a fost utilizată ca o limită pentru a reprezenta supraviețuirea. Folosind această limită, în ziua 21 nu au supraviețuit animale în brațul martor, 1 din 8 animale (12,5%) au supraviețuit în brațul anti-PD-1, 2 din 8 animale (25%) au supraviețuit în brațul Exemplu A1 75 mg/kg/zi, 3 din 8 animale (37,5%) au supraviețuit în brațul Exemplu A1 150 mg/kg/zi și 7 din 8 animale (87,5%) au supraviețuit în brațul Exemplu A1 150 mg/kg/zi și anti-PD-1. Aceste rezultate demonstrează că compuşii invenției, așa cum se exemplifică prin compusul A1, au activitate antitumorală in vivo și pot fi combinați eficient cu alte abordări imunomodulatoare.

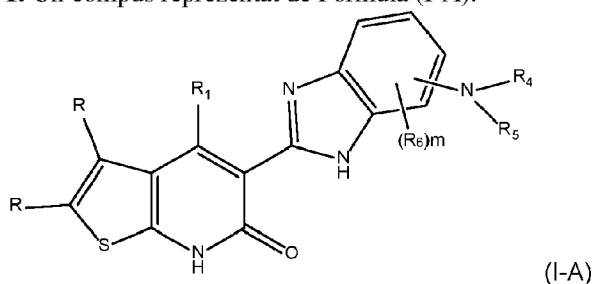
Exemplul F: model de progresie a bolii EAE

Șoarecii C57/BL6 au fost obținuți de la Jackson Laboratories. Institutional Animal Care and Use Committee of the University Health Network a aprobat toate procedurile la animale. Șoarecii au fost imunizați subcutanat (SC) cu peptida MOG35-55 emulsionată în Adjuvant Freund Complet (CFA) suplimentat cu *Mycobacterium tuberculosis*. În zilele 0 și 2 după imunizare, șoarecii au fost injectați intraperitoneal (IP) cu toxină pertussis. Semnele clinice ale EAE au fost monitorizate zilnic, conform următoarelor criterii: 0, fără boală; 1, scăderea tonului cozii; 2, slăbiciune a membrelor posterioare sau paralizie parțială; 3, paralizie completă a membrelor posterioare; 4, paralizia membrelor anterioare și posterioare; 5, moarte sau sacrificiu din cauza stării moribunde. Pentru tratamentul cu compus în timpul inducerii EAE, șoarecii au fost dozați oral (PO) cu 50 mg/kg A30 (n=4) sau apă (martor vehicul; n=5) în fiecare zi (QD). Datele sunt scorul mediu ± SEM. Rezultatele testului sunt prezentate în Figura 3.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

- US 62184348
- LIOU et al. Immunity, 2000, vol. 12, 399
- WANG et al. J. Biol. Chem., 1997, vol. 272, 22771
- ZHOU et al. J. Biol. Chem., 1999, vol. 274, 13133
- NAGATA et al. Blood, 1999, vol. 93, 3347
- CHEN et al. Oncogene, 1999, vol. 18, 7370
- DI BARTOLO et al. J. Exp. Med., 2007, vol. 204, 681
- WANG et al. J. Biol. Chem., 2012, vol. 287, 11037
- SAWASDIKOSOL et al. Immunol Res., December 2012, vol. 54 (1-3), 262-5
- BRENNER et al. EMBO J., 2005, vol. 24, 4279

- Handbook of Pharmaceutical Excipients. Pharmaceutical Press, 2005
- Remington's Pharmaceutical Sciences. 2003
- The United States Pharmacopeia: The National Formulary (USP 24 NF19). 1999
- Tetrahedron, 1999, vol. 55, 6167-6174
- J.Med.Chem., 2009, vol. 52, 278-292

(57) Revendicări:**1. Un compus reprezentat de Formula (I-A):**

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care:

R este H, -F, -Cl, -Br, -OH, -(C₁-C₄)alchil, -(C₁-C₄)haloalchil, -(C₁-C₄)alcoxi, -(C₁-C₄)alchilenă-OH sau heterocicilul monociclic cu 4-7 membri opțional substituit cu 1-3 grupe selectate dintre -F, -Cl, -Br, -OH, -(C₁-C₄)alchil, -(C₁-C₄)haloalchil, sau -(C₁-C₄)alcoxi;

R₁ este -NR^aR^b sau -OR^{a1};

R^a pentru fiecare apariție este independent -H, -(C₁-C₆)alchil, -(CH₂)_n-(C₃-C₇)cicloalchil, heterocicilul monociclic -(CH₂)_n-3-7 membri, (C₆-C₁₂)cicloalchil -(CH₂)_n-cu punte, heteroaril -(CH₂)_n-5-10 membri opțional substituit; sau heterocicilul -(CH₂)_n-6-12 membri cu punte, în care -(C₁-C₆)alchil, -(CH₂)_n-(C₃-C₇)cicloalchil, heterocicilul monociclic -(CH₂)_n-3-7 membri, (C₆-C₁₂)cicloalchil -(CH₂)_n-cu punte, heteroaril -(CH₂)_n-5-10 membri, sau heterocicilul -(CH₂)_n-6-12 membri cu punte, este opțional substituit cu 1-3 grupe selectate dintre -F, -Cl, -Br, -CN, -NH₂, -OH, oxo, -(C₁-C₄)alchil, -(C₁-C₄)haloalchil, -(C₁-C₄)alcoxi, -(C₁-C₄)haloalcoxi, -(C₁-C₄)alchilenă-OH, sau

-(C₁-C₄)alchilenă-NH₂;

R^b pentru fiecare apariție este independent -H sau -(C₁-C₆); sau,

R^a și R^b împreună cu azotul la care aceștia sunt atașați, formează -(C₃-C₁₀)heterocicilul;

R^{a1} pentru fiecare apariție este independent -H, (C₁-C₆)alchil, (C₃-C₁₀)cicloalchil, heterocicilul cu 3-10 membri, (C₆-C₁₀)aril sau heteroaril cu 3-10 membri;

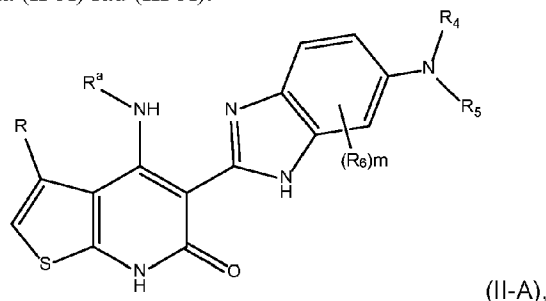
R₄ și R₅, împreună cu azotul la care sunt atașate, formează heterocicilul monociclic cu 4-7 membri sau heterocicilul cu 6-12 membri cu punte, în care heterocicilul monociclic cu 4-7 membri sau heterocicilul cu 6-12 membri cu punte este opțional substituit cu 1-3 grupe selectate dintre -F, -Cl, -Br, -CN, -NH₂, -OH, oxo, -(C₁-C₄)alchil, -(C₁-C₄)haloalchil, -(C₁-C₄)alcoxi, -(C₁-C₄)haloalcoxi, -(C₁-C₄)alchilenă-OH sau -(C₁-C₄)alchilenă-NH₂;

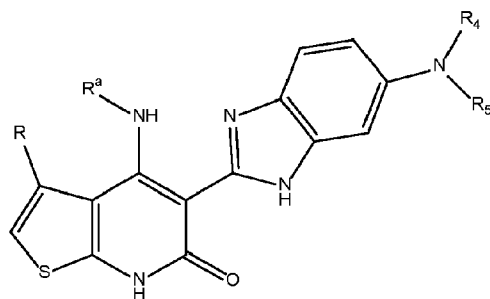
R₆ pentru fiecare apariție este independent -F, -Cl, -Br, -CN, -NH₂, -OH, -(C₁-C₆)alchil, -(C₁-C₆)haloalchil, -(C₂-C₃)alchenil, -(C₂-C₆)alchinil, (C₃-C₃)cicloalchil, -(C₁-C₆)alcoxi, -(C₁-C₆)haloalcoxi, -(C₁-C₆)alchilenă-OH sau -(C₁-C₆)alchilenă-NH₂;

m este 0, 1, 2 sau 3; și

n este 0, 1 sau 2.

2. Compusul în conformitate cu revendicarea 1, în care compusul este reprezentat prin formula (II-A) sau (III-A):





3. Compusul în conformitate cu revendicarea 1 sau 2, în care R_4 și R_5 , împreună cu azotul la care sunt atașate, formează -N-alkil-piperazinil sau morfolinil, în care piperazinil sau morfolinil este opțional substituit cu 1-2 grupe selectate dintre -F, -Cl, -Br, -OH, -(C₁-C₄)alkil, -(C₁-C₄)haloalkil, sau -(C₁-C₄)alcoxi.

4. Compusul în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 la 3, în care R^a pentru fiecare apariție este independent -H, -(CH₂)_n-(C₃-C₆)cicloalkil, heterociclil monociclic (CH₂)_n-3-6 membri, în care -(CH₂)_n-(C₃-C₆)cicloalkil sau heterociclil monociclic -(CH₂)_n-3-6 membri este opțional substituit cu 1-3 grupe selectate dintre -F, -Cl, -Br, -CN, -NH₂, -OH, -(C₁-C₄)alkil sau -(C₁-C₄)alcoxi; și n este 0 sau 1.

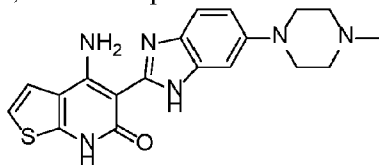
5. Compusul în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 4, în care R este H, -(C₁-C₄)alkil, -(C₁-C₄)alcoxi, N-piperazinil.

6. Compusul în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 5, în care R este H.

7. Compusul în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 6, în care R_4 și R_5 , împreună cu azotul la care sunt atașate, formează -N-metil-piperazinil sau morfolinil, ambele care sunt opțional substituite cu unu sau doi metil.

8. Compusul în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 7, în care R^a pentru fiecare apariție este independent -H; -(C₃-C₆)cicloalkil opțional substituit cu -OH; -(CH₂)_n-tetrahydro-2H-piran; morfolinil; piperidinil opțional substituit cu -F, -OH sau metil; sau tetrahydrofuran; și n este 0 sau 1.

9. Compusul în conformitate cu revendicarea 1 sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care compusul este:



10. Compoziția farmaceutică cuprinzând un compus în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 9 și un purtător sau diluant acceptabil farmaceutic.

11. Compusul în conformitate cu revendicările de la 1 până la 9, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare în medicină.

12. Compusul în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 9, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare în tratarea cancerului.

13. Compusul în conformitate cu oricare dintre revendicările 1 la 9, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare în tratarea cancerului în combinație cu un al doilea tratament anticancer, cum ar fi un agent chimioterapeutic, un agent terapeutic țintit, radiații sau intervenții chirurgicale.

14. Compusul în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 9, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare în tratarea cancerului în combinație cu un agent imunomodulator, cum ar fi un inhibitor al punctului de control, cum ar fi anticorp anti-PD-1, anticorp anti-CTLA4 sau anticorp anti-PD-L1 sau un inhibitor al oxidării triptofanului, cum ar fi inhibitor IDO1, IDO2 sau TDO2.

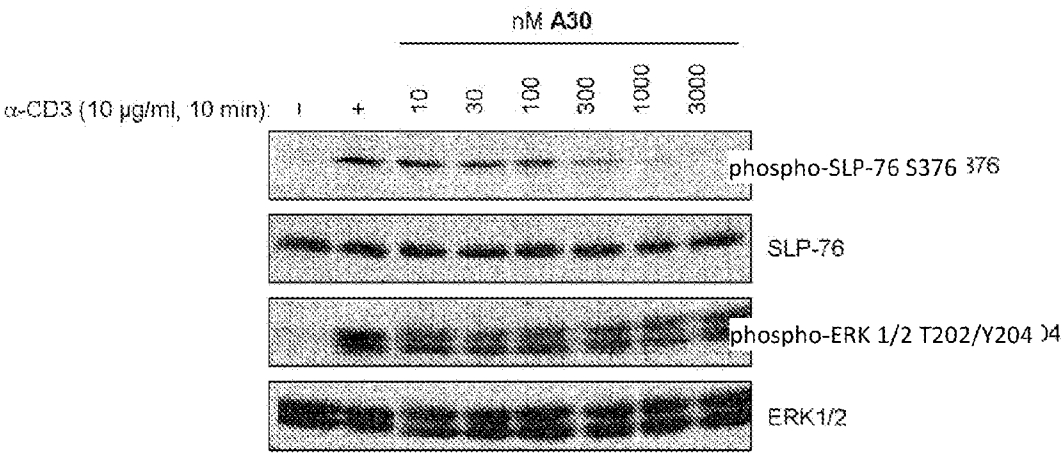


Fig. 1

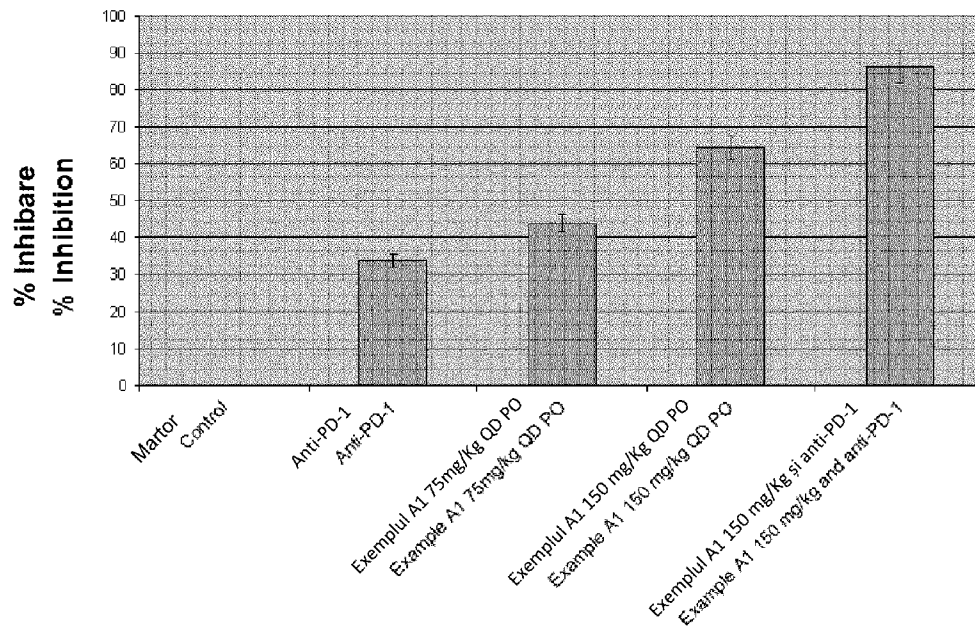


Fig. 2

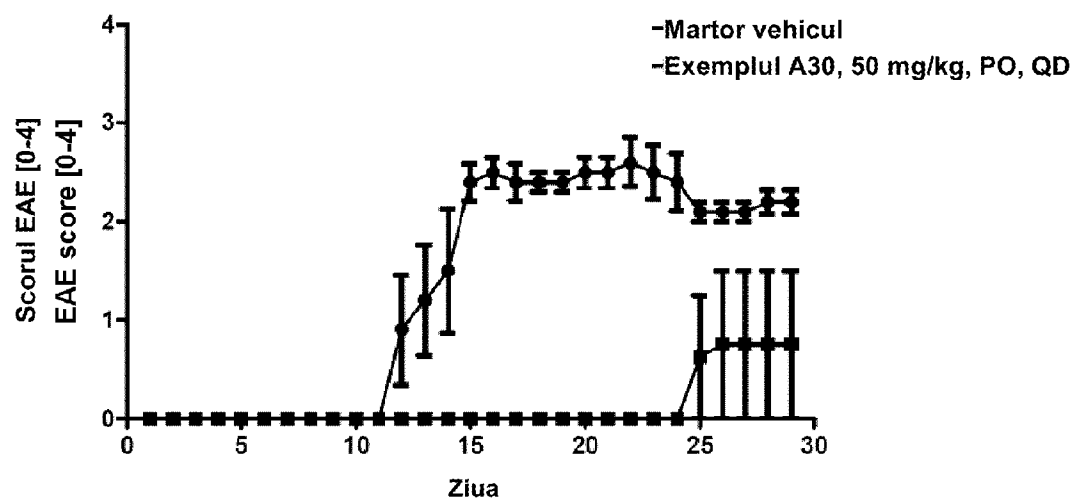


Fig. 3