

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: 30.06.2000

(32) Datum podání prioritní přihlášky: 02.07.1999

(31) Číslo prioritní přihlášky: 1999/142130

(33) Země priority: US

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: 11.09.2002
(Věstník č. 9/2002)

(86) PCT číslo: PCT/US00/18263

(87) PCT číslo zveřejnění: WO01/02369

(21) Číslo dokumentu:

2001 -4634

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 401/14

C 07 D 209/18

C 07 D 401/12

C 07 D 403/12

A 61 K 31/41

A 61 P 35/00

(71) Přihlašovatel:

AGOURON PHARMACEUTICALS, INC., La Jolla,
CA, US;

neovaskulární glaukom, revmatoidní artritida a psoriasis,
podáváním účinného množství těchto sloučenin.

(72) Původce:

Kania Robert Steven, San Diego, CA, US;
Bender Steven Lee, Oceanside, CA, US;
Borchardt Allen J., San Diego, CA, US;
Braganza John F., San Diego, CA, US;
Cripps Stephan James, San Diego, CA, US;
Hua Ye, La Jolla, CA, US;
Johnson Michael David, San Diego, CA, US;
Johnson Theodore Otto Jr., San Diego, CA, US;
Luu Hiep The, San Diego, CA, US;
Palmer Cynthia Louise, San Diego, CA, US;
Reich Siegfried Heinz, Solana Beach, CA, US;
Tempczyk-Russell Anna Maria, Ramona, CA, US;
Teng Min, San Diego, CA, US;
Thomas Christine, San Diego, CA, US;
Varney Michael David, Solana Beach, CA, US;
Wallace Michael Brennan, San Diego, CA, US;
Collins Michael Raymond, San Diego, CA, US;

(74) Zástupce:

Čermák Karel Dr., Národní třída 32, Praha 1, 11000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Indazolové sloučeniny a farmaceutické přípravky
pro inhibici proteinkináz a způsoby jejich použití**

(57) Anotace:

Jsou popsány indazolové sloučeniny, které modulují a/nebo inhibují aktivitu určité proteinkinázy. Tyto sloučeniny a farmaceutické přípravky je obsahující jsou schopny zprostředkovat tyrozinkinázovou signální transdukcii, a tím modulovat a/nebo inhibovat nežádoucí buněčnou proliferaci. Vynález se také týká terapeutického nebo profylaktického použití farmaceutických přípravků obsahujících tyto sloučeniny a léčby karcinomu a dalších chorobných stavů sdrúžených s nežádoucí angiogenezi a/nebo buněčnou proliferací, jako je například diabetická retinopatie,

Indazolové sloučeniny a farmaceutické přípravky pro inhibici proteinkináz a způsoby jejich použití

Tato přihláška je řádnou přihláškou k prozatímní patentové přihlášce^{oe} Spojených Států č. 60/142 130, podané 2. července, 1999.

Oblast techniky

Tento vynález se týká indazolových sloučenin, které zprostředkovávají a/nebo inhibují aktivitu určitých proteinkináz, a farmaceutických přípravků, které tyto sloučeniny obsahují. Vynález se také týká terapeutického nebo profylaktického použití těchto sloučenin a přípravků a dále se týká léčení karcinomů a také dalších chorobných stavů spojených s nežádoucí angiogenezí a/nebo buněčnou proliferací podáváním účinného množství těchto sloučenin.

Dosavadní stav techniky

Proteinkinázy jsou skupina enzymů, které katalyzují fosforylaci hydroxylové skupiny specifických tyrozinových, serinových nebo threoninových zbytků v proteinech. Tato fosforylace typicky významně naruší funkci proteinu a proteinkinázy jsou tedy klíčovými enzymy pro regulaci celé řady buněčných procesů, včetně metabolismu, buněčné proliferace, buněčné diferenciaci a přežívání buněk. Z mnoha různých buněčných funkcí, o kterých je známo, že je u nich nezbytná aktivita proteinkinázy, některé procesy představují lákavé cíle pro terapeutickou intervenci u určitých chorobných stavů. Dvěma příklady jsou angiogeneze a řízení buněčného

cyklu, kde proteinkinázy hrají stěžejní úlohu, přičemž tyto procesy jsou esenciální pro růst solidních nádorů, jakož i pro další onemocnění.

Angiogeneze je mechanismus, kterým jsou vytvořeny nové kapiláry z již existujících cév. Je-li nezbytné, vaskulární systém má potenciál k vytvoření nových kapilárních sítí, aby byla udržována řádná funkce tkání a orgánů. Ale u dospělých je angiogeneze dosti omezena, nastává pouze při procesu hojení ran a neovaskularizaci endometria během menstruace. (Viz Merenmies et al., Cell Growth & Differentiation, 8, 3-10 1997). Na druhé straně, nežádoucí angiogeneze je charakteristický znak několika onemocnění, jako jsou například retinopatie, psoriasis, revmatoidní artritida, makulární degenerace se vztahem k věku (AMD) a karcinomy (solidní nádory). (Folkman, Nature Med., 1, 27-31 1995). Proteinkinázy, u kterých bylo prokázáno, že jsou zapojeny do angiogenního procesu, zahrnují tři členy skupiny tyrozinkinázových receptorů růstového faktoru: VEGF-R2 (receptor 2 vaskulárního endotelového růstového faktoru, také známý jako KDR (receptor s kinázovou doménou) a jako FLK-1), FGF-R (receptor fibroblastového růstového faktoru) a TEK (také znám jako Tie-2).

VEGF-R2, který je exprimován pouze na endotelových buňkách, váže silný angiogenní růstový faktor VEGF a zprostředkovává následnou signální transdukci aktivací aktivity své intracelulární kinázy. Očekává se tedy, že přímá inhibice aktivity kináza VEGF-R2 bude mít za následek redukci angiogeneze dokonce i v přítomnosti exogenního VEGF (viz Strawn et al., Cancer Research, 56, 3540-3545, 1996), jak bylo ukázáno u mutant VEGF-R2, které nesvedou zprostředkovat signální transdukci. (Millauer et al., Cancer Research, 56, 1615-1620, 1996). Navíc se zdá, že VEGF-R2 nemá jinou funkci u dospělých kromě zprostředkování angiogenní aktivity VEGF.

Tudíž se očekává, že selektivní inhibitor aktivity kinázy VEGF-R2 by projevoval malou toxicitu.

Podobně FGF-R váže angiogenní růstové faktory aFGF a bFGF a zprostředkovává následnou intracelulární signální transdukcii. Nedávno bylo navrženo, že růstové faktory, jako je například bFGF, mohou mít klíčovou úlohu v indukci angiogeneze u solidních nádorů, které dosáhly určité velikosti. (Yoshiji et al., Cancer Research, 57, 3924-3928, 1997). Ale na rozdíl od VEGF-R2 je FGF-R exprimován ve velkém počtu různých buněčných typů v celém organismu a může nebo nemusí mít důležitou úlohu v jiných normálních fyziologických procesech u dospělých. Nicméně bylo publikováno, že systémové podávání inhibitoru s malou molekulou, který inhiboval kinázovou aktivitu FGF-R, blokovalo angiogenezi indukovanou bFGF u myši bez zjevné toxicity. (Mohammad et al., EMBO Journal, 17, 5996-5904, 1998).

TEK (také známa jako Tie-2) je další receptorová tyrozinkináza exprimovaná pouze na endotelových buňkách, o které bylo prokázáno, že má úlohu v angiogenezi. Vazba faktoru angiopoietinu-1 má za následek autofosforylaci kinázové domény TEK a má za následek signální transdukcii, která pravděpodobně zprostředkovává interakci endotelových buněk s peri-endotelovými podpůrnými buňkami, a tím usnadňuje maturaci nově vytvořených krevních cév. Na druhé straně faktor angiopoietin-2 pravděpodobně antagonizuje účinek angiopoietinu-1 na TEK a narušuje angiogenezi. (Maisonpierre et al., Science, 277, 55-60, 1997).

Jako důsledek výše popsaného výzkumu bylo navrženo léčit angiogenezi použitím sloučenin inhibujících kinázovou aktivitu VEGF-R2, FGF-R a/nebo TEK. Například, WIPO mezinárodní publikace č. WO 97/34876 popisuje určité cinnolinové deriváty, které jsou inhibitory VEGF-R2, které mohou být použity pro léčení chorobných stavů sdružených s abnormální angiogenezi

a/nebo zvýšenou vaskulární permeabilitou, jako jsou například karcinomy, diabetes, psoriasis, revmatoidní artritida, Kaposiho sarkom, hemangiom, akutní a chronické nefropatie, aterom, arteriální restenóza, autoimunitní onemocnění, akutní záněty a oční onemocnění s proliferací retinálních cév.

Kináza fosforylázy aktivuje glykogenfosforylázu, tedy zvyšuje rozpad glykogenu a uvolňování glukózy játry. Regulace produkce glukózy játry je narušena u diabetes typu 2 a je primární příčina hyperglykémie nalačno, která má za následek mnoho sekundárních komplikací, které tyto pacienty postihují. Redukce uvolňování glukózy z jater by tedy snížila zvýšenou hladinu plazmatické glukózy. Inhibitory kinázy fosforylázy by tudíž snížily fosforylázovou aktivitu a glykogenolýzu, a tak snížily hyperglykémii u pacientů.

Další fyziologická reakce na VEGF je vaskulární hyperpermeabilita, o které se předpokládá, že má úlohu v časných stadiích angiogeneze. V ischemických tkáních, jako jsou například ty, které se vyskytují v mozku obětí mozkové mrtvice, hypoxie spouští expresi VEGF, což vede ke zvýšené vaskulární permeabilitě a konečnému edému sousedních tkání. V modelu mozková mrtvice na laboratorních potkanech bylo ukázáno autory van Bruggen et al. (J. Clinical Invest., 104, 1613-20, 1999), že podávání monoklonální protilátky k VEGF snižuje objem infarktu. Očekává se tedy, že inhibitory VEGFR budou použitelné pro léčení mozková mrtvice.

Kromě jejich úlohy v angiogenezi mají proteinkinázy také velmi důležitou úlohu v řízení buněčného cyklu. Nekontrolovaná buněčná proliferace je hlavní znak karcinomu. Buněčná proliferace jako reakce na různé podněty se projevuje deregulací cyklu buněčného dělení, procesu, kterým se buňky množí a dělí. Nádorové buňky mají typicky poškozeny geny, které přímo nebo nepřímo regulují postup cyklu buněčného dělení.

Kinázy závislé na cyklinu (CDKs) jsou serinthreoninové proteinkinázy, které mají rozhodující úlohu v regulaci přechodů mezi různými fázemi buněčného cyklu. (Viz např. články sebrané v Science, 274, 1643-1677, 1996). CDK komplexy jsou vytvořeny spojením regulační cyklinové podjednotky (např. cyklin A, B1, B2, D1, D2, D3 a E) a katalytické kinázové podjednotky (např. cdc2 (CDK1), CDK2, CDK4, CDK5 a CDK6). Jak jméno napovídá, CDK projevují absolutní závislost na cyklinové podjednotce při fosforylaci svých cílových substrátů a různé páry kináza/cyklin působí na regulaci progresu specifických fází buněčného cyklu.

Je to komplex CDK4 s cykliny D, který má rozhodující úlohu v iniciaci cyklu buněčného dělení z odpočinkového nebo klidového stadia do stadia, kdy buňky začínají podstupovat buněčné dělení. Tato progresse je podrobena celé řadě růstových regulačních mechanismů, jak negativních tak pozitivních. Odchyly v tomto kontrolním systému, konkrétně ty, které ovlivňují funkci CDK4, jsou zapojeny do dalšího vývoje buněk k vysoce proliferativnímu stavu charakteristickému pro malignitu, konkrétně familiární melanomy, esofageální karcinomy a pankreatické karcinomy. (Viz např. Kamb, Trends in Genetics, 11, 136-140, 1995, Kamb et al., Science, 264, 436-440, 1994).

Nesčetné publikace popisují celou řadu chemických sloučenin použitelných proti velkému množství terapeutických cílů. Například WIPO mezinárodní přihlášky č. WO 99/23077 a WO 99/23076 popisují sloučeniny obsahující indazol mající inhibiční aktivitu pro fosfodiesterázu typu IV, vytvořené bioisosterickým nahrazením katecholu indazolem. Patent Spojených Států č. 5 760 028 popisuje heterocyklus zahrnující 3-[1-[3-(imidazolin-2-ylamino)propyl]indazol-5-ylkarbonyl-amino]-2-(benzyloxykarbonylamino)propionovou kyselinu, které jsou použitelné jako antagonisté $\alpha\beta_3$ integrinu a příbuzných

adhezivních proteinových receptorů buněčného povrchu. WIPO mezinárodní přihláška č. WO 98/09961 popisuje určité deriváty indazolu a jejich použití jako inhibitory fosfodiesterázy (PDE) typ IV nebo produkci faktor nekrotizujícího nádory (TNF) u savců. Nedávné příspěvky do virtuální knihovny známých sloučenin obsahují sloučeniny popsané jako antiproliferativní terapeutické přípravky, které inhibují CDK. Například patent Spojených Států č. 5 621 082, Xiong et al., popisuje nukleovou kyselinu kódující inhibitor CDK6 a evropská patentová přihláška č. 0 666 270 A2 popisuje peptidy a peptidomimetika, která působí jako inhibitory CDK1 a CDK2. Mezinárodní patentová přihláška č. WO 97/16447 popisuje určité analogy chromanů, které jsou inhibitory kináz závislých na cyklinu, obzvláště komplexů CDK/cyklin, jako je například CDK4/cyklin D1, které mohou být použity pro inhibici nadměrné nebo abnormální buněčné proliferace, a tudíž pro léčbu karcinomu. WIPO mezinárodní přihláška č. WO 99/21845 popisuje deriváty 4-aminothiazolu, které jsou použitelné jako CDK inhibitory.

Ale stále trvá potřeba sloučenin s malou molekulou (tzv. malých molekul), které mohou být snadno syntetizovány a účinně inhibují jednu nebo více CDK nebo komplexy CDK/cyklin. Protože CDK4 může sloužit jako obecný aktivátor buněčného dělení ve většině buněk a komplexy CDK4 a cyklinů typu D řídí časnou G₁ fázi buněčného cyklu, existuje potřeba účinných inhibitorů CDK4 a jejich komplexů cyklinů typu D pro léčbu jednoho nebo více typů nádorů. Také stěžejní úloha kináz komplexů cyklin E/CDK2 a cyklin B/CDK1 ve přechodech fází G₁/S a G₂/M, v daném pořadí, poskytuje další cíle pro terapeutickou intervenci při supresi deregulované progresi buněčného cyklu u karcinomu.

Další proteinkináza, CHK1, má důležitou úlohu jako kontrolní bod v progresi buněčného cyklu. Kontrolní body jsou kontrolní systémy, které koordinují progresi buněčného cyklu

ovlivněním formace, aktivace a následné inaktivace kináz závislých na cyklinu. Kontrolní body zabraňují progresi buněčného cyklu v nevhodný čas, udržují metabolickou rovnováhu buněk, když jsou buňky zdrženy v určité fázi (arest), a v některých případech mohou indukovat apoptózu (programovanou buněčnou smrt), když nejsou podmínky pro kontrolní bod splněny. (Viz např. O'Connor, Cancer Surveys, 29, 151-182, 1997), Nurse, Cell, 91, 865-867, 1997), Hartwell et al., Science, 266, 1821-1828 (1994), Hartwell et al., Science, 246, 629-634, 1989).

Jedna řada kontrolních bodů sleduje integritu genomu a po zjištění poškození DNA, tyto „kontrolní body poškození DNA“ blokuji progresi ve fázích buněčného cyklu G_1 a G_2 a zpomalují progresi S fáze. (O'Connor, Cancer Surveys, 29, 151-182, 1997, Hartwell et al., Science, 266, 1821-1828, 1994). Tento účinek umožňuje opravné procesy DNA, aby byla jejich práce ukončena před replikací genomu a než proběhne následná separace genetického materiálu do nových dceřiných buněk. Je důležité, že nejčastěji mutovaný gen u lidských karcinomů, nádorový supresorový gen p53, vytváří protein pro kontrolní bod poškození DNA, který blokuje progresi buněčného cyklu v G_1 fázi a/nebo indukuje apoptózu (programovanou buněčnou smrt) po poškození DNA. (Hartwell et al., Science, 266, 1821-1828, 1994). Bylo prokázáno, že nádorový supresorový gen p53 také zesiluje účinek kontrolního bodu pro poškození DNA v G_2 fázi buněčného cyklu. (Viz např. Bunz et al., Science, 28, 1497-1501, 1998), Winters et al., Oncogene, 17, 673-684, 1998), Thompson, Oncogene, 15, 3025-3035, 1997).

Díky stěžejní povaze dráhy nádorového supresorového genu p53 u lidských karcinomů jsou aktivně vyhledávány terapeutické intervence, které využívají zranitelnost karcinomů defektních v p53. Jeden objevená zranitelnost leží v operaci kontrolního bodu G_2 u buněk karcinomu defektního v p53. buňky karcinomu,

protože postrádají kontrolní bod G_1 , jsou obzvláště zranitelné při odstranění poslední zbylé bariéry chránící je před nádor likvidujícími („cancer-killing“) účinky agens poškozujících DNA: kontrolní bod G_2 . Kontrolní bod G_2 je regulován kontrolním systémem, který je zachován od kvasinek k člověku. V tomto zachovaném systému je důležitá kináza, CHK1, která transdukuje signály od komplexu citlivého na poškození DNA na inhibici aktivace kinázy cyklin B/Cdc2, která podporuje vstup do mitotické fáze (viz např. Peng et al., Science, 277, 1501-1505, 1997, Sanchez et al., Science, 277, 1497-1501, 1997). Bylo ukázáno, že inaktivace CHK1 ruší jak G_2 arest indukovaný poškozením DNA způsobeným buď protirakovinnými agens nebo endogenním poškozením DNA, tak i způsobuje přednostní usmrcení následných buněk defektních v kontrolních bodech (viz např. Nurse, Cell, 91, 865-867, 1997, Weinert, Science, 277, 1450-1451, 1997, Walworth et al., Nature, 363, 368-371, 1993, a Al-Khodairy et al., Molec. Biol. Cell, 5, 147-160, 1994).

Selektivní manipulace kontrolního bodu v karcinomových buňkách by mohla poskytnout široké využití v chemoterapeutických a radioterapeutických režimech při léčbě karcinomu a může kromě toho poskytnout obecný charakteristický znak „genomové nestability“ lidských karcinomů ke zkoumání jako selektivní základ destrukce karcinomových buněk. Celá řada faktorů má CHK1 jako stěžejní cíl pro kontrolní bod poškození DNA. Objasnění inhibitorů této a funkčně příbuzných kináz, jako je například Cdsl/CHK₂, kináza, o které bylo nedávno zjištěno, že kooperuje s CHK1 při regulaci progresu S fáze (viz Zeng et al., Nature, 395, 507-510, 1998, Matsuoka, Science, 282, 1893-1897, 1998), by mohlo poskytnout cennou novou terapeutickou podstatu pro léčení karcinomu.

Vazba receptoru integrinu k ECM iniciuje intracelulární signály zprostředkované FAK (kináza fokální adheze), které jsou zapojeny do motility buněk, buněčné proliferace a

přežití. U lidských karcinomů je nadměrná exprese FAK zapojena do geneze tumoru a metastatického potenciálu díky své úloze v integrinem zprostředkovaných signálních drahách.

Tyrozinkinázy mohou být obecně receptorového typu (tj. mající extracelulární, transmembránové a intracelulární domény) nebo nereceptorového typu (tj. jsou plně intracelulární). Má se za to, že alespoň jedna nereceptorová proteinová tyrozinkináza, jmenovitě LCK, zprostředkovává v T lymfocytech transdukci signálu z interakce proteinu buněčného povrchu (Cd4) s křížově navázanou protilátkou anti-Cd4 (detailnější diskuse o nereceptorových tyrozinkinázách je uvedena v práci autora Bolen, *Oncogene*, 8, 2025-2031, 1993, která je v tomto textu zahrnuta formou odkazu).

Kromě proteinkináz identifikovaných výše, bylo zjištěno, že mnoho dalších proteinkináz jsou terapeutické cíle a početné publikace popisují inhibitory kinázové aktivity, jako uvedeno v přehledu v následujících pracích (McMahon et al, *Oncologist*, 5, 3-10, 2000, Holash et al., *Oncogene*, 18, 5356-62, 1999, Thomas et al., *J. Biol. Chem.*, 274, 36684-92, 1999, Cohen, *Curr. Op. Chem. Biol.*, 3, 459-65, 1999, Klohs. et al., *Curr. Op. Chem. Biol.*, 10, 544-49, 1999, McMahon et al., *Current Opinion in Drug Discovery & Development*, 1, 131-146, 1998, Strawn et al., *Exp. Opin. Invest. Drugs*, 7, 553-573, 1998). Mezinárodní patentová přihláška WO 00/18761 popisuje určité substituované 3-kyanochinoliny jako inhibitory proteinkináz.

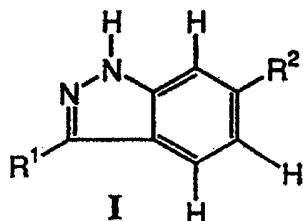
Stále ale trvá potřeba účinných inhibitorů proteinkináz. Navíc, jak je odborníkům jasné, je žádoucí, aby inhibitory kináz měly jak vysokou afinitu k cílové kináze nebo kinázám, tak byly také vysoce selektivní ve srovnání s dalšími proteinkinázami.

Podstata vynálezu

Cílem vynálezu je poskytnout silné inhibitory proteinkináz. Dalším cílem vynálezu je poskytnout účinné inhibitory kináz, které mají silnou a selektivní afinitu pro jednu nebo více konkrétních kináz.

Těchto a dalších cílů vynálezu, které budou jasné z následujícího popisu, bylo dosaženo objevením indazolových sloučenin, jejich farmaceuticky přijatelných prekurzorů, farmaceuticky aktivních metabolitů a farmaceuticky přijatelných solí (tyto sloučeniny, prekurzory, metabolity a soli jsou souhrnně nazývány jako „agens“ neboli „činidla“) popsanych níže, které modulují a/nebo inhibují aktivitu proteinkináz. Farmaceutické přípravky obsahující tato činidla jsou použitelné v léčbě onemocnění zprostředkovaných kinázovou aktivitou, jako jsou například karcinomy, a také další chorobné stavy sdružené s nežádoucí angiogenezí a/nebo buněčnou proliferací, jako je například diabetická retinopatie, neovaskulární glaukom, revmatoidní artritida a psoriasis. Dále činidla mají výhodné vlastnosti týkající se modulace a/nebo inhibice kinázové aktivity sdružené s VEGF-R, FGF-R, komplexu CDK, CHK1, LCK, TEK, FAK a/nebo kinázou fosforylázy.

V obecném aspektu se vynález týká sloučenin vzorce I:



kde:

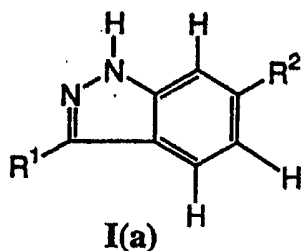
R^1 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina nebo skupina vzorce $CH=CH-R^3$ nebo $CH=N-R^3$ kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, alkenylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocykloalkylová skupina, arylová skupina nebo heteroarylová skupina a

R^2 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, heteroarylová skupina nebo $Y-X$, kde Y je atom O, S, skupina $C=CH_2$, skupina $C=O$, $S=O$, SO_2 , alkyliden, skupina NH nebo N-alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku a X je substituovaná nebo nesubstituovaná Ar, heteroarylová skupina, NH-alkylová skupina, NH-cykloalkylová skupina, NH-heterocykloalkylová skupina, NH-arylová skupina, NH-heteroarylová skupina, NH-alkoxyskupina nebo NH-dialkylamidorskupina, kde Ar je arylová skupina.

Vynález se také týká farmaceuticky přijatelných prekurzorů, farmaceuticky aktivních metabolitů a farmaceuticky přijatelných solí sloučeniny vzorce I.

Také výhodné způsoby výroby sloučenin vzorce I jsou popsány.

V dalším obecném aspektu se vynález týká sloučenin vzorce I(a):



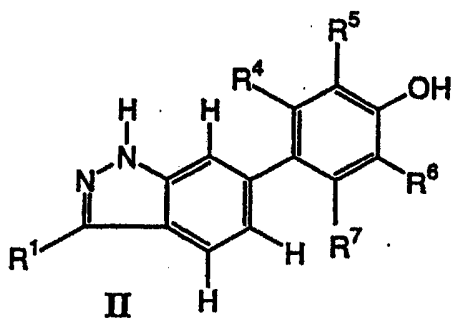
kde:

R^1 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina nebo skupina vzorce $CH=CH-R^3$ nebo $CH=N-R^3$ kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, alkenylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocykloalkylová skupina, arylová skupina nebo heteroarylová skupina a

R^2 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo $Y-Ar$, kde Y je atom O, S, skupina $C=CH_2$, skupina $C=O$, skupina $S=O$, skupina SO_2 , skupina CH_2 , skupina $CHCH_3$, skupina NH nebo N-alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku a Ar je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina.

Vynález se také týká farmaceuticky přijatelných prekurzorů, farmaceuticky aktivních metabolitů a farmaceuticky přijatelných solí sloučeniny vzorce I(a). Výhodné způsoby výroby sloučenin vzorce I(a) jsou také popsány.

V jednom výhodném obecném provedení se vynález týká sloučenin mající vzorec II:



kde:

R^1 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina nebo skupina vzorce $CH=CH-R^3$ nebo $CH=N-R^3$, kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocykloalkylová skupina, arylová skupina nebo heteroarylová skupina,

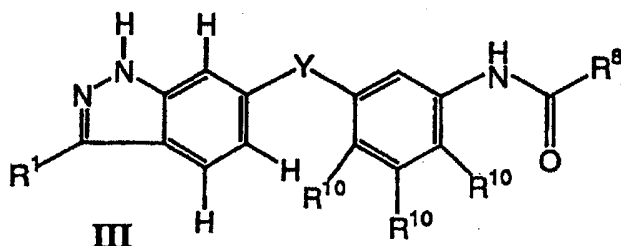
R^4 a R^7 jsou každý nezávisle atom vodíku, skupina OH, atom halogenu, alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, alkoxy skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, alkenylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, aryloxy skupina, thioarylová skupina, skupina $\text{CH}_2\text{-OH}$, $\text{CH}_2\text{-O-alkylová}$ skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, $\text{CH}_2\text{-O-arylová}$ skupina, $\text{CH}_2\text{-S-alkylová}$ skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku nebo $\text{CH}_2\text{-S-arylová}$ skupina,

R^5 a R^6 jsou každý nezávisle atom vodíku, skupina OH, atom halogenu, Z-alkylová skupina, Z-arylová skupina nebo skupina $\text{Z-CH}_2\text{CH=CH}_2$, kde Z je atom O, S, skupina NH nebo skupina CH_2 a alkylová skupina a arylová skupina ze Z-alkylové skupiny a Z-arylové skupiny je každá volitelně substituovaná,

a jejich farmaceuticky přijatelných prekurzorů, farmaceuticky aktivních metabolitů a farmaceuticky přijatelných solí.

Ve výhodném provedení vzorce II: R^1 je substituovaná nebo nesubstituovaná bicyklická heteroarylová skupina nebo skupina vzorce CH=CH-R^3 , kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina, R^4 a R^7 jsou každý nezávisle atom vodíku nebo alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku a R^5 a R^6 jsou každý nezávisle atom halogenu, Z-alkylová skupina nebo skupina $\text{Z-CH}_2\text{CH=CH}_2$, kde Z je atom O nebo S.

V dalším výhodném obecném provedení jsou sloučeniny podle vynálezu vzorce III:



kde:

R^1 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina nebo skupina vzorce $CH=CH-R^3$ nebo $CH=N-R^3$, kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocykloalkylová skupina, arylová skupina nebo heteroarylová skupina,

Y je atom O, S, skupina $C=CH_2$, skupina $C=O$, skupina $S=O$, skupina SO_2 , skupina CH_2 , skupina $CHCH_3$, skupina NH nebo N-alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku,

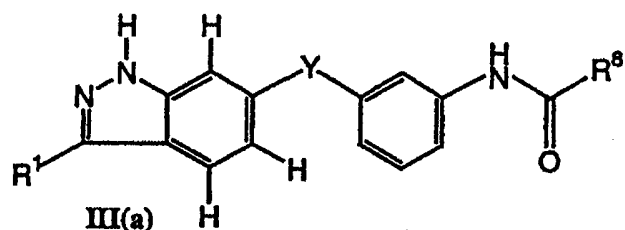
R^8 je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, alkenylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocykloalkylová skupina, arylová skupina, heteroarylová skupina, alkoxy skupina nebo aryloxy skupina,

R^{10} je nezávisle vybrán ze skupiny, kterou tvoří atom vodíku, atom halogenu a nižší alkylová skupina

A jejich farmaceuticky přijatelné prekurzory, farmaceuticky přijatelné metabolity a farmaceuticky přijatelné soli.

Výhodněji ve vzorci III: R^1 je substituovaná nebo nesubstituovaná bicyklická heteroarylová skupina nebo skupina vzorce $CH=CH-R^3$, kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina, Y je atom O, S, skupina $C=CH_2$, skupina $C=O$, skupina NH nebo N-alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, R^8 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, heteroarylová skupina, alkylová skupina a alkenylová skupina a R_{10} je atom vodíku nebo atom halogenu.

V dalším výhodném obecném provedení jsou sloučeniny podle vynálezu vzorce III(a):



kde:

R^1 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina nebo skupina vzorce $CH=CH-R^3$ nebo $CH=N-R^3$, kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocykloalkylová skupina, arylová skupina nebo heteroarylová skupina,

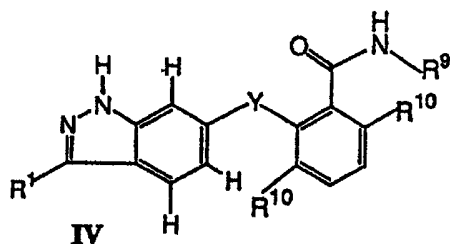
Y je atom O, S, skupina $C=CH_2$, skupina $C=O$, skupina $S=O$, skupina SO_2 , skupina CH_2 , skupina $CHCH_3$, skupina NH nebo N-alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku,

R^8 je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, alkenylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocykloalkylová skupina, arylová skupina, heteroarylová skupina, alkoxy skupina nebo aryloxy skupina,

A jejich farmaceuticky přijatelné prekurzory, farmaceuticky přijatelné metabolity a farmaceuticky přijatelné soli.

Výhodněji ve vzorci III(a): R^1 je substituovaná nebo nesubstituovaná bicyklická heteroarylová skupina nebo skupina vzorce $CH=CH-R^3$, kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina, Y je atom O, S, skupina $C=CH_2$, skupina $C=O$, skupina NH nebo N-alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku a R^8 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina.

V dalším výhodném obecném provedení jsou sloučeniny podle vynálezu vzorce IV:



kde:

R^1 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina nebo skupina vzorce $CH=CH-R^3$ nebo $CH=N-R^3$, kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocykloalkylová skupina, arylová skupina nebo heteroarylová skupina,

Y je atom O, S, skupina $C=CH_2$, skupina $C=O$, skupina $S=O$, skupina SO_2 , skupina CH_2 , skupina $CHCH_3$, skupina NH nebo N-alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku,

R_9 je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocykloalkylová skupina, arylová skupina, heteroarylová skupina, alkoxy skupina, aryloxy skupina, cykloalkoxy skupina, NH-alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, NH-arylová skupina, NH-heteroarylová skupina, $N=CH$ -alkylová skupina, skupina $NH(C=O)R^{11}$ nebo skupina NH_2 , kde R^{11} je nezávisle vybrán ze skupiny, kterou tvoří atom vodíku, substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocykloalkylová skupina, arylová skupina a heteroarylová skupina a

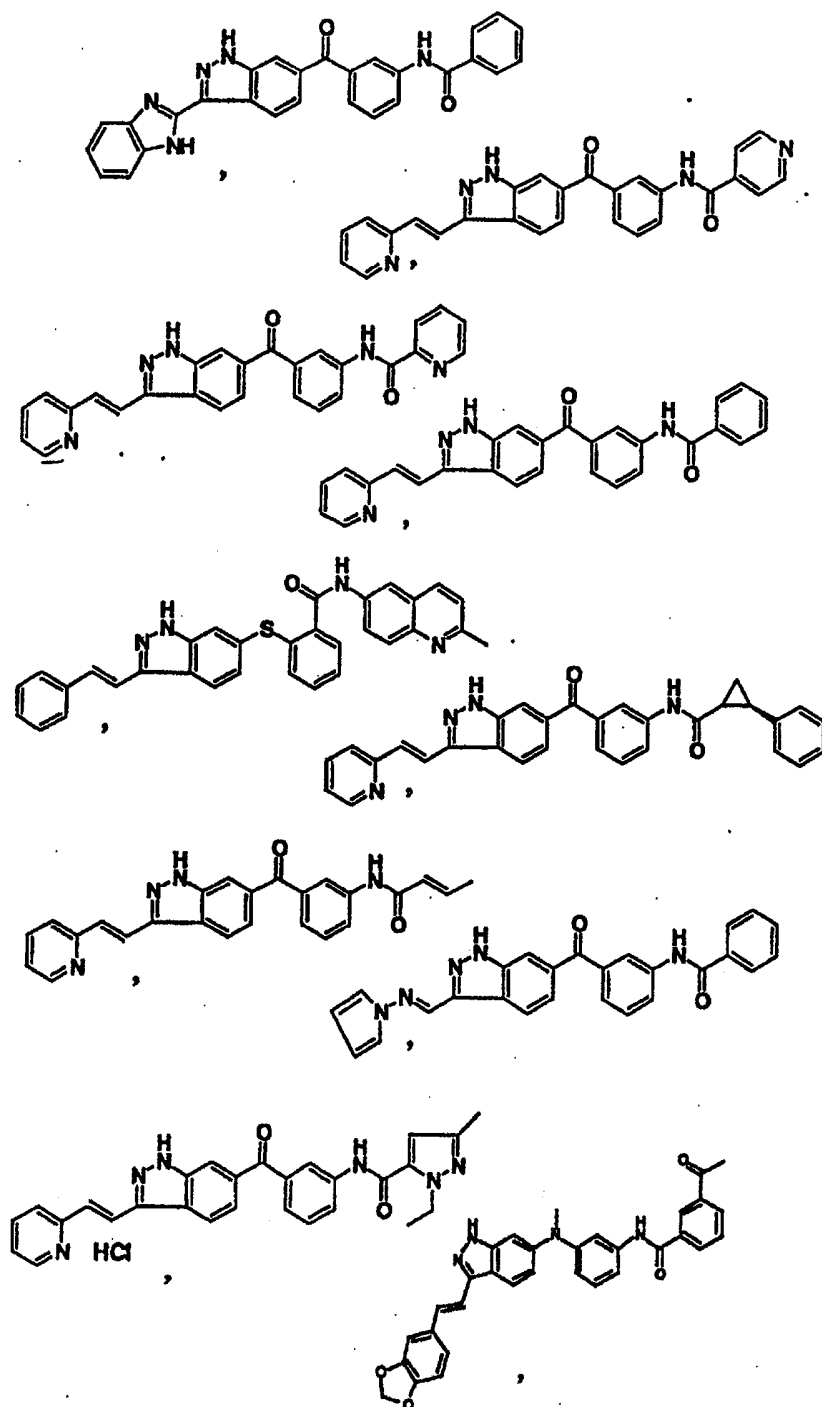
R^{10} je nezávisle vybrán ze skupiny, kterou tvoří atom vodíku, atom halogenu a nižší alkylová skupina

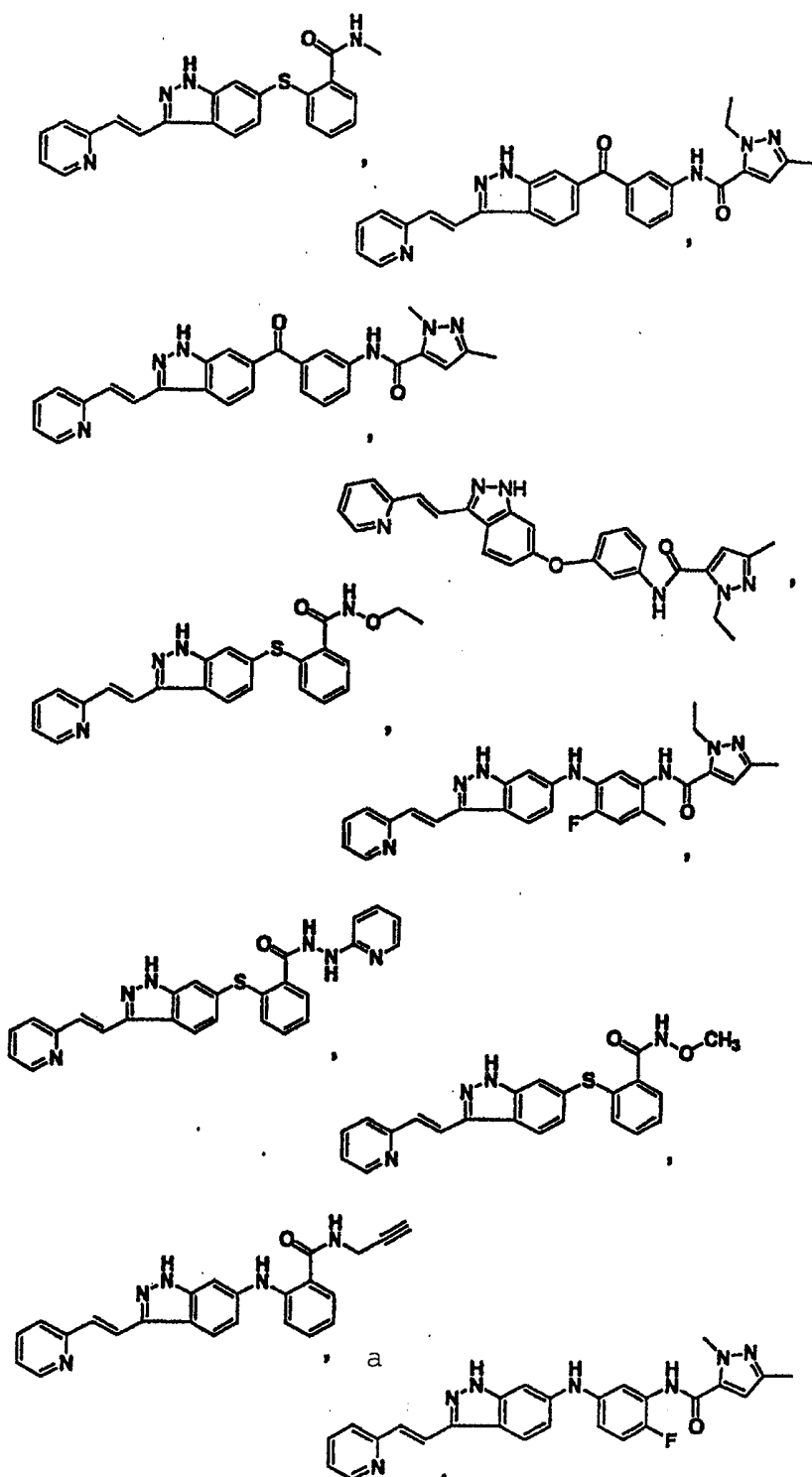
A jejich farmaceuticky přijatelné prekurzory, farmaceuticky přijatelné metabolity a farmaceuticky přijatelné soli.

Výhodněji ve vzorci IV: R^1 je skupina vzorce $CH=CH-R^3$, kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina, Y je S nebo skupina NH a

R⁹ je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, alkoxy skupina nebo NH-heteroarylová skupina.

Nejvýhodnější jsou sloučeniny podle vynálezu vybrané ze skupiny, kterou tvoří následující sloučeniny:





Vynález se také týká způsobu modulace a/nebo inhibice kinázové aktivity VEGF-R, FGF-R, komplexu CDK, CHK1, LCK, TEK,

FAK a/nebo kinázy fosforylázy podáváním sloučeniny vzorce I, II, III nebo IV nebo jejího farmaceuticky přijatelného prekurzoru, farmaceuticky aktivního metabolitu nebo farmaceuticky přijatelné soli. Výhodné sloučeniny podle předkládaného vynálezu, které mají selektivní kinázovou aktivitu, tj. mají významnou aktivitu proti jedné nebo více specifickým kinázám, zatímco mají malou nebo minimální aktivitu proti jedné nebo více různým kinázám. V jednom výhodném provedení vynálezu jsou sloučeniny podle předkládaného vynálezu sloučeniny vzorce I, které mají v podstatě vyšší účinnost proti tyrozinkináze receptoru VEGF než proti tyrozinkináze receptoru FGF-R1. Vynález se také týká způsobu modulace tyrozinkinázové aktivity receptoru VEGF bez významné modulace tyrozinkinázové aktivity receptoru FGF.

Sloučeniny podle vynálezu mohou být použity výhodně v kombinaci s dalšími známými terapeutickými přípravky. Například sloučeniny vzorce I, II, III nebo IV, které mají antiangiogenní aktivitu, mohou být podávány společně s cytotoxickými chemoterapeutickými přípravky, jako je například taxol, taxoter, vinblastin, cis-platina, doxorubicin, adriamycin apod., aby se dosáhlo zvýšeného protinádorového účinku. Aditivní nebo synergické zesílení terapeutického účinku může také být získáno společným podáváním sloučenin, vzorce I, II, III nebo IV které mají antiangiogenní aktivitu, s dalšími antiangiogenními přípravky, jako je například combretastatin A-4, endostatin, prinomastat, celecoxib, rofecoxib, EMD121974, IM862, anti-VEGF monoklonální protilátky a anti-KDR monoklonální protilátky.

Vynález se také týká farmaceutických přípravků obsahujících účinné množství agens vybraného ze skupiny, kterou tvoří sloučeniny vzorce I a jeho farmaceuticky přijatelných soli, farmaceuticky aktivních metabolitů a farmaceuticky přijatelných prekurzorů a farmaceuticky

přijatelného nosiče nebo vehikula tohoto agens. Vynález dále poskytuje léčbu karcinomu, a také dalších chorobných stavů sdružených s nežádoucí angiogenezí a/nebo buněčnou proliferací, obsahující podávání účinného množství takového agens pacientovi, který tuto léčbu potřebuje.

Detailní popis vynálezu a výhodných provedení

Sloučeniny podle vynálezu vzorce I, II, III a IV jsou použitelné pro zprostředkování aktivity proteinkináz. Konkrétněji jsou sloučeniny použitelné jako antiangiogenní činidla a jako činidla pro modulaci a/nebo inhibici aktivity proteinkináz, a tak jsou užitečné při léčení karcinomu nebo jiných onemocnění sdružených s buněčnou proliferací zprostředkovanou proteinkinázami.

Termín „alkylová skupina“, jak se používá v tomto textu, se týká alkylových skupin s přímým a rozvětveným řetězcem, které mají jeden až dvanáct uhlíkových atomů. Příklady alkylových skupin jsou: methylová skupina, (Me), ethylová skupina (Et), n-propylová skupina, isopropylová skupina, butylová skupina, isobutylová skupina, sek-butylová skupina, terc-butylová skupina (t-Bu), pentylová skupina, isopentylová skupina, terc-pentylová skupina, hexylová skupina, isohexylová skupina apod. Termín „nižší alkylová skupina“ označuje alkylovou skupinu mající 1 až 8 atomů uhlíku (alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku). Vhodné substituované alkylové skupiny jsou: fluormethylová skupina, difluormethylová skupina, trifluormethylová skupina, 2-fluorethylová skupina, 3-fluorpropylová skupina, hydroxymethylová skupina, 2-hydroxyethylová skupina, 3-hydroxypropylová skupina apod.

Termín „alkyliden“ se týká dvojmocného radikálu, který má jeden až dvanáct atomů uhlíku. Příklady alkylidenových skupin zahrnují skupinu CH_2 , skupinu CHCH_3 , skupinu $(\text{CH}_3)_2$ apod.

Termín „alkenylová skupina“ se týká alkenylových skupin s přímým a rozvětveným řetězcem, která má dva až dvanáct atomů uhlíku. Příklady alkenylových skupin zahrnují prop-2-enylovou skupinu, but-2-enylovou skupinu, but-3-enylovou skupinu, 2-methylprop-2-enylovou skupinu, hex-2-enylovou skupinu apod.

Termín „alkynylová skupina“ se týká alkynylových skupin s přímým a rozvětveným řetězcem, které mají dva až dvanáct atomů uhlíku.

Termín „cykloalkylová skupina“ se týká saturevaných nebo částečně nesaturevaných karbocyklů, které mají tři až dvanáct atomů uhlíku, včetně bicyklických a tricyklických cykloalkylových struktur. Vhodné cykloalkylové skupiny zahrnují cyklopropylovou skupinu, cyklobutylovou skupinu, cyklopentylovou skupinu, cyklohexylovou skupinu, cykloheptylovou skupinu apod.

Termín „heterocykloalkylová skupina“ znamená saturevaný nebo částečně nesaturevaný monocyklický radikál obsahující atomy uhlíku, výhodně 4 nebo 5 atomů uhlíku v kruhu a alespoň jeden heteroatom vybraný z atomů dusíku, kyslíku a síry.

Termíny „arylová skupina“ a „heteroarylová skupina“ se týkají monocyklických a polycyklických nesaturevaných nebo aromatických kruhových struktur, přičemž termín „arylová skupina“ se týká karbocyklů a termín „heteroarylová skupina“ se týká heterocyklů. Příklady aromatických kruhových struktur jsou: fenylová skupina, naftylová skupina, 1,2,3,4-tetrahydronaftylová skupina, furylová skupina, thienylová skupina, pyrolylová skupina, pyridinylová skupina, pyrazolylová skupina, imidazolylová skupina, pyrazinylová skupina, pyridazinylová skupina, 1,2,3-triazinylová skupina, 1,2,4-oxadiazolylová skupina, 1,3,4-oxadiazolylová skupina, 1-H-tetrazol-5-ylová skupina, indolylová skupina, chinolinylová skupina, benzofuranylová skupina, benzothiofenylová skupina

(thianaftenylová skupina) apod. Tyto skupiny mohou být volitelně substituovány kondenzovanými kruhovými strukturami nebo můstky, například skupinou $\text{OCH}_2\text{-O}$.

Termín „alkoxyskupina“ znamená radikál-O-alkylovou skupinu. Příklady obsahují methoxy skupinu, ethoxy skupinu, propoxy skupinu apod.

Termín „aryloxyskupina“ představuje -O-arylovou skupinu, přičemž arylová skupina je definována výše.

Termín „cykloalkoxyskupina“ představuje -O-cykloalkylovou skupinu, přičemž cykloalkylová skupina je definována výše.

Termín „atom halogenu“ představuje atom chloru, fluoru, bromu nebo jodu. Termín „halogen“ představuje atom chloru, fluoru, bromu nebo jodu.

Obecně, různé skupiny nebo funkční skupiny proměnných ve vzorcích mohou být volitelně substituovány jedním nebo více vhodnými substituenty. Příklady substituentů jsou atom halogenu (F, Cl, Br nebo I), nižší alkylová skupina, skupina -OH, skupina -NO₂, skupina -CN, skupina -CO₂H, nižší -O-alkylová skupinu, -arylová skupina, -arylová-nižší alkylová skupina, skupina -CO₂CH₃, skupina -CONH₂, skupina -OCH₂CONH₂, skupina -NH₂, skupina -SO₂NH₂, halogenalkylová skupina (např. skupina -CF₃, skupina -CH₂CF₃), -O-halogenalkylová skupina (např. skupina -OCF₃, skupina -OCHF₂) apod.

Termíny „obsahující“ a „zahrnující“ jsou použity otevřeně, v neomezuujícím významu.

Rozumí se, že i když sloučenina vzorce I může mít projevy tautomerie, obrázky vzorců v tomto popisu úmyslně zobrazují pouze jednu možnou tautomerní formu. Rozumí se tedy, že ve vynálezu vzorce představují každou tautomerní formu zobrazené sloučeniny a nejsou omezeny pouze na specifickou tautomerní formu zobrazenou obrázky vzorců.

Některé ze sloučenin podle vynálezu mohou existovat jako jednoduché stereoizomery (tj. v podstatě bez dalšího stereoizomeru), racemáty a/nebo směsi enantiomerů a/nebo diastereomerů. Všechny tyto jednotlivé stereoizomery, racemáty a jejich směsi jsou obsaženy v rozsahu předkládaného vynálezu. Výhodně sloučeniny podle vynálezu, které jsou opticky aktivní, jsou použity v opticky čisté formě.

Jak odborníci všeobecně vědí, opticky čistá sloučenina mající jedno chirální centrum, je sloučenina, která obsahuje v podstatě jeden ze dvou možných enantiomerů (tj. je enantiomerně čistá) a opticky čistá sloučenina mající více než jedno chirální centrum je sloučenina, která je čistá diastereomerně a čistá enantiomerně. Výhodně jsou sloučeniny podle předkládaného vynálezu použity ve formě, která je alespoň z 90 % opticky čistá, tj. ve formě, která obsahuje alespoň z 90 % jeden izomer (80% enantiomerní nadbytek („e.e.”) nebo diastereomerní nadbytek („d.e.”)), výhodněji alespoň z 95 % (90% e.e. nebo d.e.), ještě výhodněji alespoň z 97,5 % (95 % e.e. nebo d.e.) a nejvýhodněji alespoň z 99 % (98% e.e. nebo d.e.).

Kromě toho se předpokládá, že vzorce pokrývají solvatované, jakož i nesolvatované formy označených struktur. Například vzorec I zahrnuje sloučeniny určené struktury v hydratované i nehydratované formě. Další příklady solvátů zahrnují struktury v kombinaci s isopropanolem, ethanolem, methanolem, DMSO, ethylacetátem, octovou kyselinou nebo ethanolaminem.

Kromě sloučenin vzorce I, II, III a IV zahrnuje vynález farmaceuticky přijatelné prekurzory, farmaceuticky aktivní metabolity a farmaceuticky přijatelné soli těchto sloučenin.

„Farmaceuticky přijatelný prekurzor“ je sloučenina, která může být konvertována za fyziologických podmínek nebo

solvolýzou na specifickou sloučeninu nebo na farmaceuticky přijatelnou sůl této sloučeniny.

„Farmaceuticky aktivní metabolit“ znamená farmakologicky aktivní produkt vytvořený tělesným metabolismem ze specifické sloučeniny nebo její soli. Metabolity sloučeniny mohou být identifikovány s použitím rutinních technik v oboru známých a jejich aktivity zjišťovány s použitím testů, jako jsou například testy popsané v tomto textu.

Prekurzory a aktivní metabolity sloučeniny mohou být identifikovány s použitím rutinních technik v oboru známých. (Viz např. Bertolini, G. et al., J. Med. Chem., 40, 2011-2016, 1997, Shan, D. et al., J. Pharm. Sci., 86 (7), 765-767, Bagshawe K., Drug Dev. Res., 34, 220-230, 1995, Bodor, N., Advances in Drug Res., 13, 224-331, 1984, Bundgaard, H., Design of Prodrugs (Elsevier Press 1985), a Larsen, I. K., Design and Application of Prodrugs, Drug Design and Development, Krogsgaard-Larsen et al., vyd., Harwood Academic Publishers, 1991).

„Farmaceuticky přijatelná sůl“ znamená sůl, která si podržela biologickou účinnost volných kyselin a bází specifikovaných sloučenin a která není biologicky nebo jinak nežádoucí. Sloučenina podle vynálezu může mít dostatečně kyselou, dostatečně bazickou nebo obě funkční skupiny a podle toho reagovat s jakýmkoliv počtem anorganických nebo organických bází a anorganických a organických kyselin, za vzniku farmaceuticky přijatelné soli. Příklady farmaceuticky přijatelných solí obsahují soli připravené reakcí sloučenin podle předkládaného vynálezu s minerální nebo organickou kyselinou nebo anorganickou bází, jako jsou například tyto soli: sulfáty, pyrosulfáty, bisulfáty, sulfity, bisulfity, fosfáty, monohydrogenfosfáty, dihydrogenfosfáty, metafosfáty, pyrofosfáty, chloridy, bromidy, jodidy, acetáty, propionáty, dekanoáty, kapryláty, akryláty, formiáty, isobutyráty,

kaproáty, heptanoáty, propioláty, oxaláty, malonáty, sukcináty, suberáty, sebakáty, fumaráty, maleáty, butyn-1,4-dioáty, hexyn-1,6-dioáty, benzoáty, chlorbenzoáty, methylbenzoáty, dinitrobenzoáty, hydroxybenzoáty, methoxybenzoáty, ftaláty, sulfonáty, xylensulfonáty, fenylacetáty, fenylpropionáty, fenylbutyráty, citráty, laktáty, γ -hydroxybutyráty, glykoláty, tartráty, methansulfonáty, propansulfonáty, naftalen-1-sulfonáty, naftalen-2-sulfonáty a mandeláty.

Jestliže je sloučenina podle vynálezu báze, požadovaná farmaceuticky přijatelná sůl může být připravena jakýmkoliv vhodným způsobem v oboru dostupným, například ošetřením volné báze anorganickou kyselinou, jako je například chlorovodíková kyselina, bromovodíková kyselina, sírová kyselina, dusičná kyselina, fosforečná kyselina apod. Nebo organickou kyselinou, jako je například octová kyselina, maleinová kyselina, jantarová kyselina, mandlová kyselina, fumarová kyselina, malonová kyselina, pyrohroznová kyselina, oxalová kyselina, glykolová kyselina, salicylová kyselina, pyranosidylová kyselina, jako je například glukuronová kyselina nebo galakturonová kyselina, alfa-hydroxykyselina, jako je například kyselina citronová nebo kyselina vinná, aminokyselina, jako je například asparagová kyselina nebo glutamová kyselina, aromatická kyselina, jako je například benzoová kyselina nebo skořicová kyselina, sulfonová kyselina, jako je například p-toluensulfonová kyselina nebo ethansulfonová kyselina nebo podobně.

Jestliže je sloučenina podle vynálezu kyselina, požadovaná farmaceuticky přijatelná sůl může být připravena jakoukoliv vhodnou metodou, například ošetřením volné kyseliny anorganickou nebo organickou bází, jako je například amin (primární, sekundární nebo terciární), hydroxid alkalického kov nebo hydroxid kovu alkalických zemin nebo podobně.

Ilustrativní příklady vhodných solí zahrnují organické soli derivované z aminokyselin, jako je například glycin a arginin, čpavek, primární, sekundární a terciární aminy a cyklické aminy, jako je například piperidin, morfolin a piperazin a anorganické soli derivované ze sodíku, kalcia, draslíku, magnézia, manganu, železa, mědi, zinku, aluminia a lithia.

V případě, že činidla jsou pevné látky, odborníci vědí, že sloučeniny a soli podle vynálezu mohou existovat v různých krystalických nebo polymorfních formách, předpokládá se tedy, že všechny jsou zahrnuty v rozsahu předkládaného vynálezu a specifikovaných vzorcích.

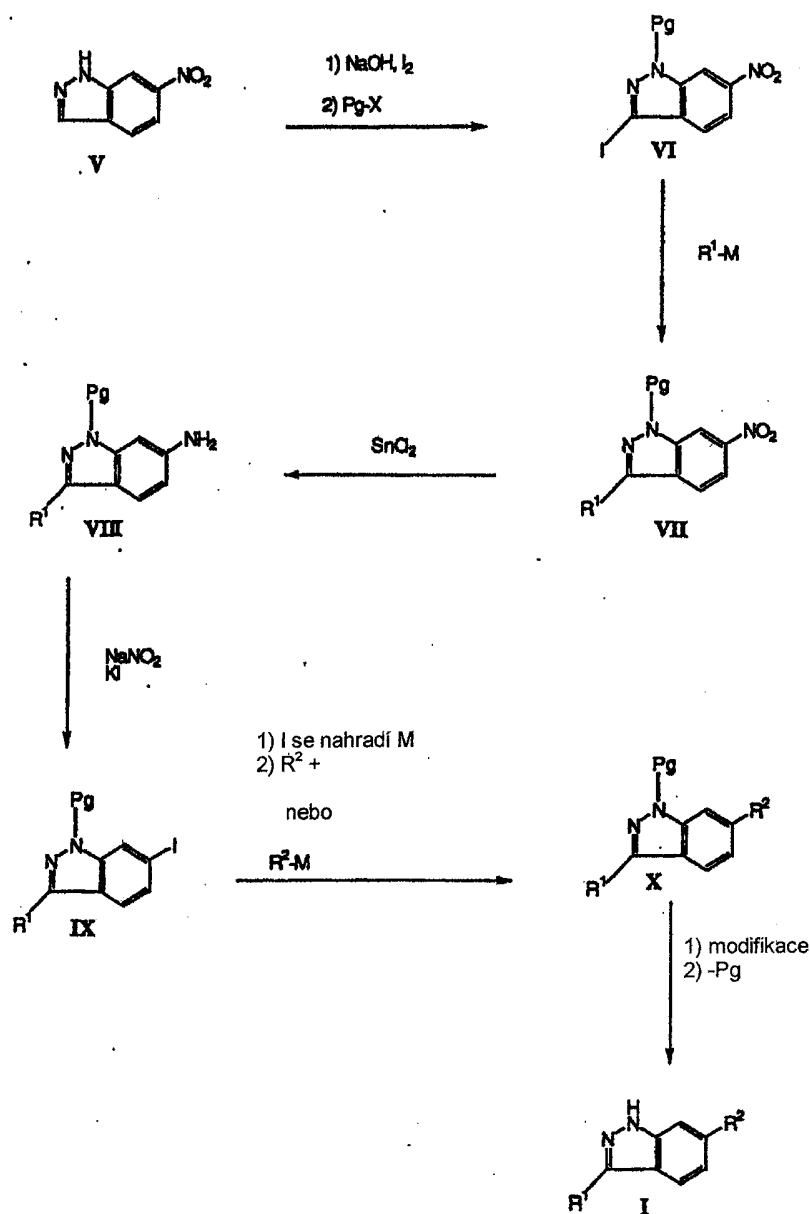
Terapeuticky účinná množství činidel podle vynálezu mohou být použita k léčbě onemocnění zprostředkovaných modulací nebo regulací proteinkinázy. „účinné množství“ znamená množství činidla, které, když je podáváno savci, který toto léčení potřebuje, je postačující pro léčení nemoci zprostředkované aktivitou jedné nebo více proteinkináz, jako jsou například tyrozinkinázy. Tak např. terapeuticky účinné množství sloučeniny vzorce I, její soli, aktivního metabolitu nebo prekurzoru je množství postačující modulovat, regulovat nebo inhibovat aktivitu jedné nebo více proteinkináz tak, že chorobný stav, který je zprostředkován touto aktivitou, je redukován nebo zmírněn.

Množství daného činidla, které odpovídá tomuto množství, kolísá v závislosti na faktorech, jako je například konkrétní sloučenina, chorobný stav a jeho závažnost, identita (např. hmotnost) savce, který tuto léčbu potřebuje, ale může být přesto rutinně určeno odborníkem v oboru. Termín „léčba“ znamená alespoň zmírnění chorobného stavu savce, například člověka, který je ovlivněn, alespoň částečně, aktivitou jedné nebo více proteinkináz, jako jsou například tyrozinkinázy, a zahrnuje: prevenci výskytu chorobného stavu u savce, konkrétně když je zjištěno, že savec má predispozice k výskytu

chorobného stavu, ale nemoc ještě nebyla diagnostikována, modulaci a/nebo inhibici chorobného stavu a/nebo úlevu od chorobného stavu.

Činidla podle vynálezu mohou být připravena s použitím reakcí a podle schémat syntézy, jak jsou popsána dále, s využitím technik v oboru dostupných a známých s použitím výchozích látek, které jsou snadno k dispozici.

V jednom obecném syntetickém procesu jsou sloučeniny vzorce I připraveny podle následujících reakčních schémat:

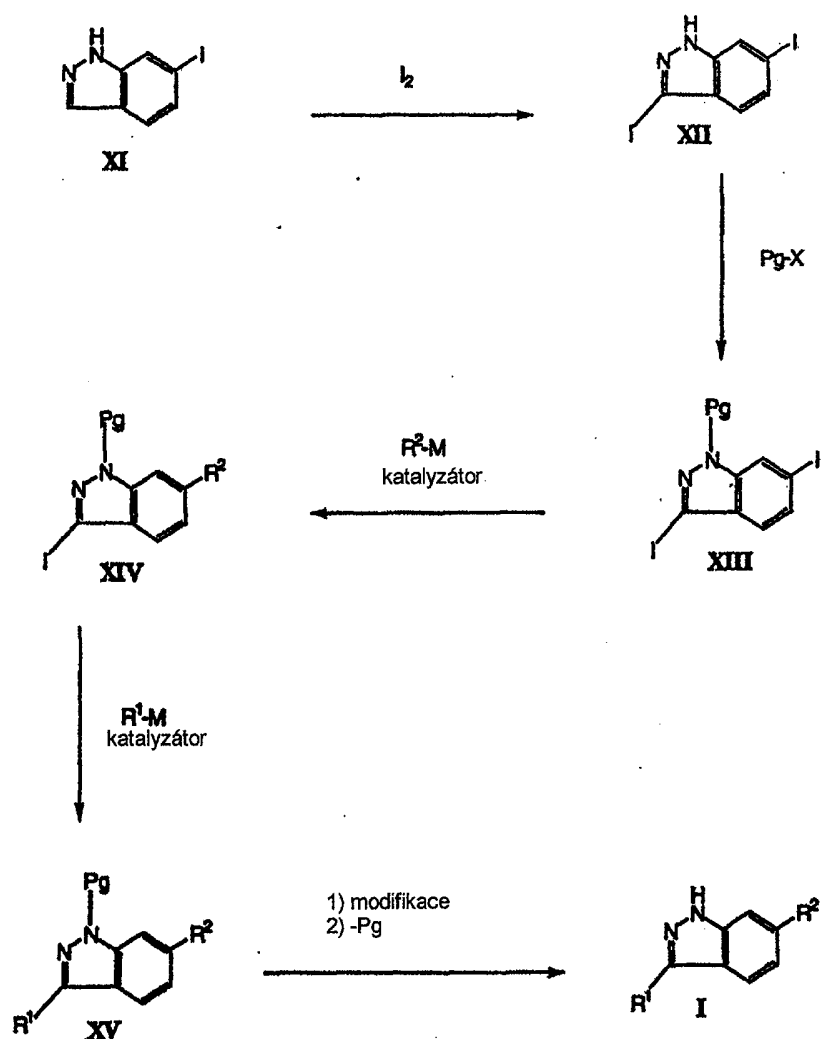


6-nitroindazol (sloučenina V) byl podroben působení jodu a báze, např. NaOH, ve vodné/organické směsi, výhodně s dioxanem. Směs je acidifikována a produkt izolován filtrací. K výslednému 3-jod-6-nitroindazolu ve směsi dichlormethanu a 50% vodného KOH při teplotě 0 °C bylo přidáno činidlo chránící skupiny („Pg“) (kde X = halogen), výhodně trimethylsilyl-ethoxymethylchlorid (SEM-Cl) a katalyzátor fázového přenosu, např. tetrabutylamoniumbromid (TBABr). Po 1 až 4 hodinách byly dvě fáze naředěny, organické vrstvy byly odděleny, usušeny nad sulfátem sodným, filtrovány a koncentrovány. Hrubý produkt byl purifikován chromatografií na silikagelu za vzniku sloučeniny vzorce VI. Ošetření sloučenin vzorce VI ve vhodném organickém rozpouštědle vhodným R^1 -organokovovým činidlem, výhodně kyselinou R^1 -boronovou, v přítomnosti vodné báze, např. uhličitanu sodného, a vhodného katalyzátoru, výhodně $Pd(PPh_3)_4$ dalo, po extrakčním zpracování a chromatografii na silikagelu, sloučeniny vzorce VII. R^1 substituent může být vyměněn se sloučeninami vzorce VII nebo pozdějšími meziprodukty uvedenými v těchto schématech oxidačním štěpením (např. ozonolýzou), pak následovala adice k výsledné aldehydové funkční skupině Wittigovou nebo kondenzační transformací (typické příklady 42(a-e)). Ošetření sloučenin vzorce VII redukujícím činidlem, výhodně $SnCl_2$, poskytuje, po obvyklém vodném zpracování a purifikaci, sloučeniny vzorce VIII. Pro řadu derivátů, kde Y = NH nebo N-nižší alkylová skupina, mohou být sloučeniny vzorce VIII podrobeny působení arylchloridy nebo heteroarylchloridy, bromidy, jodidy nebo trifláty v přítomnosti báze, výhodně Cs_2CO_3 a katalyzátoru, výhodně Pd-BINAP, (a kde Y = N-nižší alkylová skupina, s následným alkylačním krokem) za vzniku sloučenin vzorce X. Aby se vytvořily další Y vazby, byl ke sloučeninám vzorce VIII přidán dusitan sodný v chlazených standardních vodných kyselých podmínkách, pak následovalo přidání jodidu draselného a mírné zahřívání. Standardní

zpracování a purifikace dalo vznik jodidovým sloučeninám vzorce IX.

Ošetření sloučenin vzorce IX organokovovým činidlem, např. butyllithiem, podporuje výměnu halogenu za lithium. Tento meziprodukt reagoval s R^2 elektrofilem, např. karbonylovou skupinou nebo triflátem, prostřednictvím možného zprostředkování dalšími kovy a katalyzátory, výhodně chloridem zinečnatým a $Pd(PPh_3)_4$ za vzniku sloučenin vzorce X. Alternativně mohou být sloučeniny vzorce IX podrobeny působení organokovového činidla, jako je například organoboronová kyselina v přítomnosti katalyzátoru, např. $Pd(PPh_3)_4$, v atmosféře oxidu uhelnatého za vzniku sloučenin vzorce X. Alternativně u derivátů, kde $Y = NH$ nebo S , mohou být sloučeniny vzorce IX podrobeny působení vhodných aminů nebo thiolů v přítomnosti báze, výhodně Cs_2CO_3 nebo K_3PO_4 a katalyzátoru, výhodně $Pd-BINAP$ nebo $Pd-(bis-cyklohexyl)bifenylfosfinu$ za vzniku sloučenin vzorce X. Obvyklé výměny funkčních skupin, jako jsou například oxidace, redukce, alkylace, acylace, kondenzace a deprotekce, pak mohou být použity k další derivatizaci této řady za vzniku konečných sloučenin vzorce I.

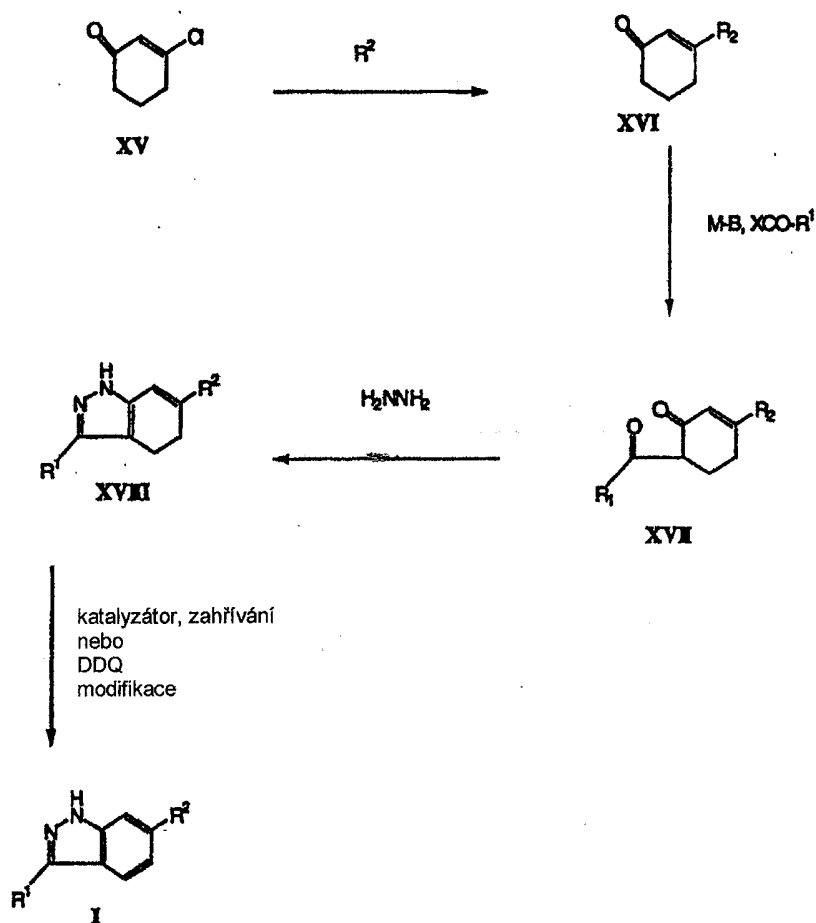
Sloučeniny podle vynálezu vzorce I mohou také být připraveny podle obecného postupu ukázaného v následujícím schématu:



6-jodindazol (XI) byl podroben působení jodu a báze, např. NaOH, ve vodné/organické směsi, výhodně s dioxanem. Směs je acidifikována a produkt XII byl izolován filtrací. K výslednému 3,6-dijodindazolu ve směsi dichlormethanu a 50% vodného KOH při teplotě 0 °C bylo přidáno činidlo chránící skupiny, výhodně SEM-Cl, a katalyzátor fázového přenosu, např. TBABr. Dvě fáze byly naředěny, organické vrstvy byly odděleny, usušeny nad sulfátem sodným, filtrovány a koncentrovány. Hrubý produkt byl purifikován chromatografií na silikagelu za vzniku sloučeniny vzorce XIII. Ošetření sloučenin vzorce XIII ve vhodném organickém rozpouštědle vhodným R^2 -organokovovým činidlem, např. R^2 -ZnCl nebo bor- R^2 -boronovým činidlem, a

vhodného katalyzátoru, výhodně $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ dalo, po extrakčním zpracování a chromatografii na silikagelu, sloučeniny vzorce XIV. Ošetření sloučenin vzorce XIV ve vhodném organickém rozpouštědle vhodným R^1 -organokovovým činidlem (např. bor- R^1 -boronovým činidlem nebo $\text{R}^1\text{-ZnCl}$), v přítomnosti vodné báze, uhličitanu sodného, a vhodného katalyzátoru, výhodně $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ dalo, po extrakčním zpracování a chromatografii na silikagelu, sloučeniny vzorce XV. Obvyklé výměny funkčních skupin, jako jsou například oxidace, redukce, alkylace, acylace, kondenzace a deprotektace, pak mohou být použity k další derivatizaci této řady za vzniku konečných sloučenin vzorce I.

Alternativně mohou být sloučeniny vzorce I, kde R^2 je substituovaná nebo nesubstituovaná skupina Y-Ar , kde Y je atom O nebo S, připraveny podle následujícího obecného schématu:



Míchaný acetonový roztok 3-chlorcyklohex-2-enonu (XV), $H-R^2$ a bezvodý uhličitán draselný byl zahříván k varu pod zpětným chladičem po dobu 15-24 hodin, ochlazen a filtrován. Koncentrace a chromatografie filtrátu na silikagelu poskytla 3- R^2 -cyklohex-2-enon (XVI).

Ketony vzorce XVI mohou reagovat s vhodnou bází (M-B), výhodně lithiumbis(trimethylsilyl)amidem a reagovat se skupinou R^1-CO-X (kde $X = \text{halogen}$), které po standardním kyselém zpracování a purifikaci poskytly sloučeniny vzorce XVII. Tento produkt, ve směsi HOAc a EtOH, smíchaný s monohydrátem hydrazinu, byl zahříván při vhodné teplotě po vhodnou dobu, výhodně v 60-80 °C po dobu 2-4 hodin. Po ochlazení byla směs nalita do saturovaného roztoku hydrouhličitanu sodného, extrahována organickým rozpouštědlem, koncentrována a purifikována na silikagelu za vzniku sloučeniny vzorce XVIII. Sloučeniny vzorce XVIII mohou být oxidovány s použitím velkého počtu známých metod za vzniku sloučenin vzorce I.

Další sloučeniny vzorce I mohou být připraveny analogickým způsobem k obecným postupům popsaným výše nebo detailními postupy popsanými v příkladech v tomto textu. Afinita sloučenin podle vynálezu k receptoru může být zvýšena zajištěním mnoha kopií ligandu v těsné blízkosti, výhodně s použitím kostry poskytnuté nosičovou skupinou. bylo ukázáno, že poskytnutí takových multivalentních sloučenin s optimálními prostory mezi skupinami dramaticky zlepšuje vazbu k receptoru. (Viz např. Lee et al., Biochem, 23, 4255, 1984). Multivalentnost a prostorové oddělení mohou být řízeny selekcí vhodných nosičových skupin nebo spojovacích jednotek. Takové skupiny zahrnují molekulární nosiče, které obsahují velký počet funkčních skupin, které mohou reagovat s funkčními skupinami sdruženými se sloučeninami podle vynálezu. Samozřejmě může být použit velký počet nosičů, včetně

proteinů, jako je například BSA nebo HAS, rozmanité peptidy včetně například pentapeptidů, dekaeptidů, pentadekaeptidů apod. Peptidy nebo proteiny mohou obsahovat požadovaný počet aminokyselinových zbytků majících volné aminoskupiny ve svých postranních řetězcích, ale mohou také být použity další funkční skupiny, jako jsou například sulfhydrylové skupiny nebo hydroxylové skupiny, za zisku stabilních vazeb.

Sloučeniny, které silně regulují, modulují nebo inhibují proteinkinázovou aktivitu sdruženou s receptory VEGF, FGF, komplexy CDK, TEK, CHK1, LCK, FAK a kinázou fosforylázy, kromě jiných, a které inhibují angiogenezi a/nebo buněčnou proliferaci jsou žádoucí a jsou jedním výhodným provedením předkládaného vynálezu. Předkládaný vynález se dále týká způsobu modulace nebo inhibice proteinkinázové aktivity, například v savčí tkáni, podáváním činidla podle vynálezu. Aktivita sloučenin podle vynálezu jako modulátorů proteinkinázové aktivity, jako je například aktivita kináz, může být měřena jakoukoliv metodou odborníkům dostupnou, včetně testů in vivo a/nebo in vitro. Příklady vhodných testů pro měření aktivity obsahují testy popsané v pracích Parast C. et al., *Biochemistry*, 37, 16788-16801, 1998, Jeffrey et al., *Nature*, 376, 313-320, 1995, WIPO mezinárodní patentová přihláška č. WO 97/34876 a WIPO mezinárodní patentová přihláška č. WO 96/14843. Tyto vlastnosti mohou být stanoveny, například s použitím jednoho nebo několika biologických testovacích postupů uvedených v příkladech níže.

Aktivní činidla podle vynálezu mohou být formulována do farmaceutických přípravků, jak je popsáno dále. Farmaceutické přípravky podle tohoto vynálezu obsahují účinné modulační, regulační nebo inhibiční množství sloučenin vzorce I, II, III nebo IV a inertní, farmaceuticky přijatelný nosič nebo ředidlo. V jednom provedení farmaceutických přípravků jsou poskytnuty účinné hladiny činidel podle vynálezu tak, aby bylo

dosaženo terapeuticky prospěšného účinku týkajícího se modulace proteinkináz. „Účinnými hladinami“ jsou míněny hladiny, při kterých je účinek proteinkináz regulován na minimum. Tyto přípravky jsou připraveny v jednotkové lékové formě vhodné pro požadovaný způsob podávání, např. parenterální nebo perorální podávání.

Činidlo podle vynálezu je podáván v obvyklé lékové formě připravené kombinací terapeuticky účinného množství činidla (např. sloučeniny vzorce I) jako účinné složky s vhodnými farmaceutickými nosiči nebo ředidly podle obvyklých postupů. Tyto postupy mohou zahrnovat míchání, granulaci a lisování, nebo rozpuštění složek, jak je to třeba v závislosti na požadovaném přípravku.

Použitý farmaceutický nosič může být buď pevný nebo tekutý. Příklady pevných nosičů jsou laktóza, sacharóza, talek, želatina, agar, pektin, arabská guma, stearát hořečnatý, kyselina stearová apod. Příklady tekutých nosičů jsou sirup, arašídový olej, olivový olej, voda apod. Podobně nosič nebo ředidlo může zahrnovat látku umožňující časově opožděné nebo časově řízené uvolňování, která je v oboru známá, jako je například glycerylmonostearát nebo glyceryldistearát, a sice samotnou, nebo s voskem, ethylcelulózou, hydroxypropylmethylcelulózou, methylmethakrylátem apod.

Může být použita celá řada farmaceutických forem. Tedy, jestliže byl použit pevný nosič, přípravek může být formulován do tablet, vložen do tvrdých želatinových tobolek ve formě prášku nebo pelet, nebo může být ve formě pastilek nebo zdravotních bonbónů. Množství pevného nosiče může kolísat, ale obecně je přibližně od 25 mg do přibližně 1 g. Jestliže byl použit tekutý nosič, přípravek je ve formě sirupu, emulze, měkké želatinové tobolky, sterilního roztoku pro injekci nebo suspenze v ampuli nebo lahvičce nebo nevodné tekuté suspenze.

Aby se získala stabilní ve vodě rozpustná léková forma, je farmaceuticky přijatelná sůl činidla podle vynálezu rozpuštěna ve vodném roztoku organické nebo anorganické kyseliny, jako je například 0,3M roztok jantarové kyseliny nebo kyseliny citronové. Jestliže není dostupná forma rozpustné soli, činidlo může být rozpuštěno ve vhodném dalším rozpouštědle nebo kombinaci dalších rozpouštědel. Příklady vhodných dalších rozpouštědel bez omezení zahrnují alkohol, propylenglykol, polyethylenglykol 300, polysorbát 80, glycerin apod. v koncentracích v rozmezí od 0 do 60 % celkového objemu. V příkladném provedení byla sloučenina vzorce I rozpuštěna v DMSO a naředěna vodou. Přípravek může také být ve formě roztoku soli účinné složky ve vhodném vodném vehikulu, jako je například voda nebo isotonický fyziologický roztok nebo roztok dextrózy.

Je známo, že aktuální dávky činidel použitých v přípravcích podle tohoto vynálezu kolísají podle konkrétního použitého komplexu, formulovaného konkrétního přípravku, způsobu podávání a konkrétního místa podávání, příjemce a léčené nemoci. Optimální dávky pro dané chorobné stavy může být stanoven odborníky s použitím obvyklých testů pro stanovení dávky se zřetelem k experimentálním datům pro dané činidlo. Pro perorální podávání příkladná denní dávka obecně použitá je přibližně od 0,001 přibližně do 1000 mg/kg tělesné hmotnosti, výhodněji přibližně od 0,001 přibližně do 50 mg/kg tělesné hmotnosti, s kúrami léčení opakovanými ve vhodných intervalech. Podávání prekurzorů jsou typicky dávkovány v hmotnostních hladinách, které jsou chemicky ekvivalentní k hmotnostním hladinám plně aktivní formy.

Přípravky podle vynálezu mohou být vyráběny metodami obecně známými pro přípravu farmaceutických přípravků, např. obvyklými technikami, jako je například míchání, rozpuštění, granulace, dražování, „levigating“, emulgace, enkapsulace,

vychytávání nebo lyofilizace. Farmaceutické přípravky mohou být formulovány obvyklým způsobem s použitím jednoho nebo více fyziologicky přijatelných nosičů, které mohou být vybrány ze skupiny, kterou tvoří excipienty a další látky, které usnadňují zpracování účinných sloučenin do přípravků, které mohou být použity farmaceuticky.

Vlastní formulace je závislá na vybraném způsobu podávání. Pro injekce mohou být činidla podle vynálezu formulována do vodných roztoků, výhodně ve fyziologicky kompatibilních pufrech, jako je například Hanksův roztok, Ringerův roztok nebo fyziologický roztok. Pro podávání přes sliznice jsou ve formulacích použita penetrující činidla vhodná k přestoupení bariéry. Taková penetrující činidla jsou v oboru obecně známa.

Pro perorální podávání mohou být sloučeniny snadno formulovány kombinací účinných sloučenin s farmaceuticky přijatelnými nosiči v oboru známými. Takové nosiče umožňují, že sloučeniny podle vynálezu jsou formulovány jako tablety, pilulky, dražé, tobolky, tekutiny, gely, sirupy, suspenze, suspenze apod. pro perorální požívání léčeným pacientem. Farmaceutické přípravky pro perorální použití mohou být získány s použitím pevného excipientu ve směsi s účinnou složkou (činidlem), volitelně namletím výsledné směsi a zpracováním směsi granulí po přidání vhodných pomocných látek, je-li žádoucí, pro přípravu jader pro tablety nebo dražé. Vhodné excipienty obsahují: plnidla, jako jsou například sacharidy, včetně laktózy, sacharózy, mannitolu nebo sorbitolu, a celulóзовé přípravky, například, kukuřičný škrob, pšeničný škrob, rýžový škrob, bramborový škrob, želatina, guma, methylcelulóza, hydroxypropylmethylcelulóza, karboxymethylcelulóza sodná nebo polyvinylpyrolidon (PVP). Je-li to třeba, mohou být přidána rozvolňovadla, jako je například zesítený polyvinylpyrolidon, agar nebo kyselina alginová nebo její sůl, jako je například alginát sodný.

Jádra dražé jsou opatřena vhodnými obaly. Pro tento účel mohou být použity koncentrované roztoky sacharidů, které volitelně zahrnují arabskou gumu, polyvinylpyrolidon, gelový základ Carbopol, polyethylenglykol a/nebo oxid titaničitý, roztok laku a vhodná organický rozpouštědla nebo směsi rozpouštědel. barviva nebo pigmenty mohou být přidány do obalů (potahů) tablet nebo dražé pro identifikaci nebo pro charakterizaci odlišných kombinací aktivních činidel.

Farmaceutický přípravky, které mohou být použity perorálně, zahrnují „push-fit“ tobolky vytvořené ze želatiny, a také měkké uzavřené tobolky vytvořené ze želatiny a změkčovadla, jako je například glycerol nebo sorbitol. „Push-fit“ tobolky mohou obsahovat účinné složky ve směsi s plnidly, jako je například laktóza, pojivy, jako jsou například škroby, a/nebo lubrikanty, jako je například talek nebo stearát hořečnatý a, volitelně, stabilizátory. V měkkých tobolkách mohou být aktivní činidla rozpuštěna nebo suspendována ve vhodných tekutinách, jako jsou například mastné oleje, tekutý parafin nebo tekuté polyethylenglykoly. Kromě toho mohou být přidány stabilizátory. Všechny formulace pro perorální podávání by měly být v dávkách vhodných pro toto podávání. Pro bukalní podávání mohou mít přípravky formu tablety nebo pastilky formulované obvyklým způsobem.

Pro podávání intranazálně nebo inhalací byly sloučeniny pro použití podle předkládaného vynálezu obvykle formulovány do aerosolového spreje, který je aplikován z tlakového balení nebo rozprašovače za pomoci vhodného hnacího plynu (propelentu), např. dichlordifluormethanu, trichlorfluormethanu, dichlortetrafluorethanu, oxidu uhličitého nebo dalšího vhodného plynu. V případě tlakového aerosolového balení může být jednotková dávka určena pomocí vhodného dávkovacího ventilu pro aplikaci odměřené dávky. Tobolky a zásobníky ze želatiny pro použití v inhalátoru nebo přístroji

pro insuflaci apod. mohou být formulovány tak, že obsahují práškovou směs sloučeniny a vhodný práškovou bázi, jako je například laktóza nebo škrob.

Sloučeniny mohou být formulovány pro parenterální podávání injekcí, např. injekcí bolusu nebo kontinuální infúzí. Formulace pro injekce mohou být předloženy v jednotkové lékové formě, např. v ampulích nebo v nádobkách s více dávkami, s přidanými konzervačními činidly. Přípravky mohou mít takové formy jako suspenze, roztoky nebo emulze v olejových nebo vodných vehikulech a mohou obsahovat formulační činidla, jako jsou například suspendující činidla, stabilizátory a/nebo dispergační činidla.

Farmaceutické formulace pro parenterální podávání zahrnují vodné roztoky účinných sloučenin ve formě rozpustné ve vodě. Kromě toho mohou být připraveny suspenze účinných činidel jako příslušné olejové injekční suspenze. Vhodná lipofilní rozpouštědla nebo vehikula obsahují mastná oleje, jako je například sezamový olej nebo syntetické estery mastných kyselin, jako je například ethyloléat nebo triglyceridy nebo lipozomy. Vodné injekční suspenze mohou obsahovat látky, které zvyšují viskozitu suspenze, jako je například karboxymethylcelulóza sodná, sorbitol nebo dextran. Volitelně suspenze mohou také obsahovat vhodné stabilizátory nebo činidla, která zvyšují rozpustnost sloučenin, aby byla umožněna příprava vysoce koncentrovaných roztoků.

Pro podávání do oka je sloučenina vzorce I, II, III nebo IV dodávána ve farmaceuticky přijatelném očním vehikulu, takže je sloučenina udržována v kontaktu s očním povrchem po dostatečně dlouhou dobu, aby se umožnilo sloučenině penetrovat rohovkovou oblast a vnitřní oblasti oka, včetně, například, přední komory, zadní komory, sklivce, komorové vody, tekutiny sklivce, rohovky, duhovky/řasnatého tělesa, čočky, cévnatky/sítnice. Farmaceuticky přijatelné oční vehikulum může

být mast, rostlinný olej nebo opouzdřovací látka. Sloučenina podle vynálezu může také být injikována přímo do sklivce a komorové vody.

Alternativně může být účinná složka v práškové formě pro rekonstituci s vhodným vehikulem, např. sterilní vodou bez pyrogenu, těsně před použitím. Sloučeniny mohou také být formulovány v rektálních přípravcích, jako jsou například čípky nebo retenční klystýry, např. obsahující obvyklé čípkové báze, jako je například kakaové máslo nebo další glyceridy.

Kromě formulací popsaných výše mohou také být sloučeniny formulovány jako depotní přípravky. Takové dlouhodobě působící formulace mohou být podávány implantací (například, subkutánně nebo intramuskulárně) nebo intramuskulární injekcí. Tak například sloučeniny mohou být formulovány s vhodnými polymerními nebo hydrofobními látkami (například, jako emulze v přijatelném oleji) nebo iontoměničové pryskyřice nebo jako pomalu rozpustné deriváty, například, jako pomalu rozpustná sůl.

Farmaceutickým nosičem pro hydrofobní sloučeniny je systém dalších rozpouštědel (ko-solventů), obsahující benzylalkohol, napolární surfaktant, organický polymer mísitelný s vodou a vodná fáze. Systém dalších rozpouštědel může být VPD systém dalších rozpouštědel. VPD je roztok 3% (hmotnost/objem) benzylalkoholu, 8% (hmotnost/objem) napolárního surfaktantu polysorbátu 80 a 65% (hmotnost/objem) polyethylenglykolu 300, doplněný do objemu absolutním ethanolem. VPD systém dalších rozpouštědel (VPD:5W) obsahuje VPD naředěný 1:1 roztokem 5% dextrózy ve vodě. Tento systém dalších rozpouštědel rozpouští dobře hydrofobní sloučeniny a samotný je málo toxický po systémovém podávání. Přirozeně vzájemný poměr systému dalších rozpouštědel může být značně změněn bez porušení jeho charakteristické rozpustnosti a toxicity. Navíc může být změněna identita složek systému dalších rozpouštědel:

například mohou být použity další nepochární surfaktanty s nízkou toxicitou namísto polysorbátu 80, může být změněna velikost frakce polyethylenglykolu, další biokompatibilní polymery mohou nahradit polyethylenglykol, např. polyvinylpyrolidon a dextróza může být substituována dalšími sacharidy nebo polysacharidy.

Alternativně mohou být použity pro hydrofobní farmaceutické sloučeniny další aplikační systémy. Lipozomy a emulze jsou známé příklady aplikačních vehikul nebo nosičů pro hydrofobní léky. Mohou být také použita určitá organická rozpouštědla, jako je například dimethylsulfoxid, ačkoliv obvykle za cenu vyšší toxicity. Kromě toho mohou být sloučeniny aplikovány s použitím systému s prodlouženým uvolňováním, jako jsou například semipermeabilní matrice pevných hydrofobních polymerů obsahující terapeutické činidlo. Byly zavedeny také různé materiály umožňující prodloužené uvolňování, které jsou odborníkům známy. Tobolky s prodlouženým uvolňováním mohou, v závislosti na své chemické povaze, uvolňovat sloučeniny po několik týdnů až 100 dnů. V závislosti na chemické povaze a biologické stabilitě terapeutického činidla mohou být použity pro stabilizaci proteinu další strategie.

Farmaceutické přípravky také mohou obsahovat vhodné pevné nebo gelové nosiče nebo excipienty. Příklady takových nosičů nebo excipientů obsahují uhličitán vápenatý, fosfát vápenatý, sacharidy, škroby, deriváty celulózy, želatinu a polymery, jako jsou například polyethylenglykoly.

Některé ze sloučenin podle vynálezu mohou být poskytnuty jako soli s farmaceuticky kompatibilními protiionty (counterionty). Farmaceuticky kompatibilní soli mohou být vytvořeny s mnoha kyselinami, včetně chlorovodíkové, sírové, octové, mléčné, vinné, jablečné, jantarové, apod. Soli mají tendenci k tomu, že jsou rozpustnější ve vodných nebo dalších

protonových rozpouštědlech než odpovídající formy s volnou bází.

Příprava výhodných sloučenin podle předkládaného vynálezu je popsána detailně v následujících příkladech, ale odborník rozpozná, které popsané chemické reakce mohou být snadno upraveny k přípravě celé řady dalších inhibitorů proteinkináz podle vynálezu. Například syntéza sloučenin podle vynálezu, které nejsou uvedeny v příkladech, může být úspěšně prováděna modifikací odborníkům známou, např. užitím vhodné ochrany pro interferující skupiny, záměnou vhodným reagenty v oboru známých nebo vytvořením rutinních modifikací reakčních podmínek. Alternativně další reakce popsané v tomto textu nebo v oboru známé jsou považovány za použitelné pro přípravu dalších sloučenin podle vynálezu.

Příklady provedení vynálezu

V příkladech popsaných dále, není-li uvedeno jinak, jsou všechny teploty udávány ve stupních Celsia a všechny části a procenta jsou hmotnostní. Reagencie byly zakoupeny od komerčních dodavatelů, jako je například firma Aldrich Chemical Company nebo firma Lancaster Synthesis Ltd. a byly použity bez další purifikace, není-li uvedeno jinak. Tetrahydrofuran (THF), N,N-dimethylformamid (DMF), dichlormethan, toluen a dioxan byly zakoupeny od firmy Aldrich v zapečetěných lahvích a použity hned po obdržení. Všechna rozpouštědla byla purifikována s použitím standardních metod odborníkům známých, není-li uvedeno jinak.

Reakce uvedené níže byly obecně prováděny pod přetlakem argonu nebo dusíku nebo s vysoušením zkumavky, při teplotě místnosti (není-li uvedeno jinak), v bezvodých rozpouštědlech, a reakční baňky byly uzavřeny gumovými zátkami pro zavádění

substrátů a reagensií prostřednictvím injekční stříkačky. Chemické sklo bylo sušeno v pícce a/nebo bylo sušeno zahříváním. Analytická chromatografie na tenké vrstvě (TLC) byla prováděna na tepelně ošetřených skleněných destičkách se silikagelem 60 F 254 Analtech (0,25 mm) a pomocí eluce vhodnými poměry rozpouštědel (objem/objem) a jsou uvedeny na patřičném místě. Reakce byly testovány TLC a ukončeny poté, co bylo usouzeno, že výchozí látka je spotřebována.

Vizualizace TLC destiček byla prováděna postřikem p-anisaldehydovým činidlem nebo fosfomolybdenovou kyselinou (Aldrich Chemical 20 % (hmotnostních) v ethanolu) a aktivací zahříváním. Zpracování bylo typicky prováděno zdvojením reakčního objemu reakčním rozpouštědlem nebo extrakčním rozpouštědlem, a pak promytím uvedenými vodnými roztoky s použitím 25 % objemu z extrakčního objemu, není-li uvedeno jinak. Roztoky s produktem byly usušeny nad bezvodým Na_2SO_4 před filtrací a evaporací rozpouštědel při sníženém tlaku na rotační odpařovače, pak se uvádí, že rozpouštědla byla odstraněna ve vakuu. Velmi rychlá chromatografie (flash chromatography) na koloně (Still et al., J. Org. Chem., 43, 2923 1978) byla prováděna s použitím silikagelu pro velmi rychlou chromatografii (47-61 μm , Baker) a silikagelu: poměr hrubé látky přibližně 20:1 až 50:1, není-li uvedeno jinak. Hydrogenolýza byla prováděna při tlaku uvedeném v příkladech nebo při tlaku okolí.

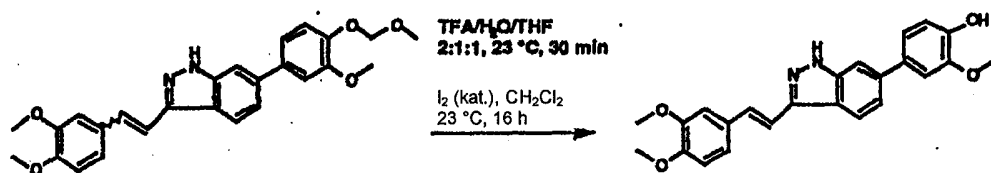
^1H -NMR spektra byla zaznamenávána na Brukerově přístroji pracujícím ve 300 MHz a ^{13}C -NMR spektra byla zaznamenávána v 75 MHz. NMR spektra byla získána jako roztoky CDCl_3 (udáváno v ppm), s použitím chloroformu jako referenčního standardu (7,25 ppm a 77,00 ppm) nebo CD_3OD (3,4 a 4,8 ppm a 49,3 ppm) nebo vnitřně tetramethylsilan (0,00 ppm), kde to bylo potřebné. Další NMR rozpouštědla byla použita podle potřeby. Kde je uveden větší počet vrcholů, byly použity následující

zkratky: s (singlet), d (dublet), t (triplet), m (multiplet), š (široký), dd (dublet dubletů), dt (dublet tripletů). Kde jsou uvedeny kondenzační konstanty, jsou v jednotkách Hertz (Hz).

Infračervená (IR) spektra byla zaznamenávána na spektrometru Perkin-Elmer FT-IR pro čisté oleje, jako KBr pelety nebo jako roztoky CDCl_3 a kde jsou uvedeny, jsou udávány ve vlnótu (cm^{-1}). Hmotnostní spektra byla získána s použitím LSIMS nebo elektrosprejové metody. Všechny teploty tání (tt) byly nekorigovány.

Příklad 1(a)

3-[E-2-(3,4-dimethoxyfenyl)vinyl]-6-(3-methoxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol

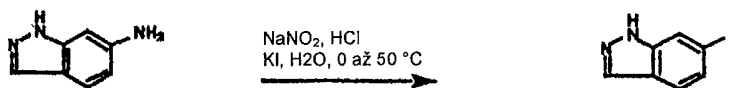


~205 mg (0,461 mmol) (teoreticky) 3-[E/Z-2-(3,4-dimethoxyfenyl)vinyl]-6-[3-methoxy-4-(methoxymethoxy)fenyl]-1H-indazolu bylo rozpuštěno v 10 ml tetrahydrofuranu (THF) a bylo podrobeno působení 10 ml vody a 20 ml trifluoroctové kyseliny (TFA). Reakční směs byla ponechána za míchání ve 23 °C po dobu 30 minut. Směs byla naředěna 100 ml toluenu a těkavé látky byly odstraněny při sníženém tlaku 3,99 kPa (30 mm Hg, 35 °C) za vzniku koncentrovaného objemu ~5 ml. Opět bylo přidáno 100 ml toluenu a směs byla koncentrována při sníženém tlaku za vzniku surové látky, která ještě obsahovala částečně kyselinu. Látka byla rozdělena mezi ethylacetát a saturovaný hydrouhličitan sodný, organická látka byla oddělena, usušena nad sulfátem sodným, dekantována a koncentrována při sníženém tlaku. ~185 mg (0,461 mmol)

(teoreticky)) zbytku, směsi olefinových izomerů, bylo nabráno do 50 ml dichlormethanu ve 23 °C a bylo podrobeno působení 80 mg jodu. Směs byla ponechána za míchání ve 23 °C po dobu 12 hodin. Směs byla podrobena působení 10 ml saturovaného hydrouhličitanu sodného 10 ml a 5% vodného bisulfitu sodného. Směs byla naředěna 200 ml ethylacetátu a organická látka byla promyta 100 ml saturovaného hydrouhličitanu sodného, usušena nad sulfátem sodným, dekantována a koncentrována při sníženém tlaku za vzniku surového produktu. Surový produkt byl purifikován na 40 ml silikagelu (směs ethylacetátu a hexanu 6:4 → 7:3) a všechny frakce obsahující požadovaný produkt byly spojeny, koncentrovány a precipitovány z dvojvrstvy dichlormethanu a hexanu (1:3) za vzniku 93 mg (spojené výtěžky) 3-[E-2-(3,4-dimethoxyfenyl)vinyl]-6-(3-methoxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazolu jako bílé pevné látky: R_f sm 0,42, p 0,35 (směs ethylacetátu a hexanu 7:3), FTIR (tenký film) 3324, 1600, 1514, 1463, 1422, 1264, 1137, 1024, 959, 852 cm^{-1} , ^1H NMR (CDCl_3) δ 10,0 (š s, 1H), 8,08 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,59 (s, 1H), 7,49 (d, 1H, $J = 16,6$ Hz), 7,45 (dd, 1H, $J = 1,4, 8,4$ Hz), 7,34 (d, 1H, $J = 16,6$ Hz), 7,20-7,12 (m, 4H), 7,03 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 6,91 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz), 5,68 (š s, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,97 (s, 3H), 3,93 (s, 3H), ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 149,6, 149,5, 146,0, 144,0, 142,6, 140,8, 133,9, 131,4, 130,7, 121,7, 121,4, 120,9, 120,4, 120,2, 118,6, 115,4, 111,7, 110,8, 109,1, 108,2, 56,4, 56,3, 56,2. HRMS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 403,1658, změřeno 403,1658. $[\text{M}-\text{H}]/z$ vypočteno 401, změřeno 401.

Výchozí látka byla připravena takto:

(i)

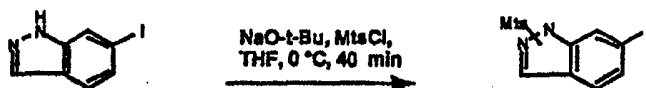


25.06.02

46

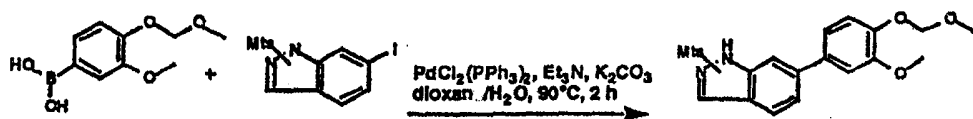
Ke 40,8 g (0,3065 mol, 1 ekv.) 6-aminoindazolu v baňce s kulatým dnem o objemu 2 litrů (2 l) obsahující velké magnetické míchadlo bylo přidáno 256 g ledu, pak následovalo 128 ml vody a reakční nádoba byla ponořena do ledové lázně. K této míchané suspenzi bylo při teplotě 0 °C přidáno 128 ml (1,53 mol, 5 ekv.) koncentrované vodné HCl. Hned poté bylo přidáno 23,3 g (0,338 mol, 1,1 ekv.) roztoku NaNO₂ v 96 ml vody. Po 10 minutách míchání při teplotě 0 °C bylo přidáno 61 g (0,368 mol, 1,2 ekv.) KI zpočátku velmi pomalu (nejednou po ~100 mg, protože první malé dávky KI způsobují prudký vývin plynu), a pak rychleji (celková doba 5 minut). Chladná lázeň byla odstraněna a reakční směs byla zahřáta na 40 °C (vyvíjel se plyn). Když klesla rychlost vývoje plynu (~30 minut), reakční směs byla zahřáta na 50 °C po dobu 30 minut. Směs pak byla ochlazená na 23 °C a bylo přidáno 320 ml 3N NaOH pro neutralizaci, a pak následovalo 320 ml 50% saturovaného NaHCO₃. Suspenze pak byla filtrována přes Buchnerovu nálevku za vzniku tmavě červenohnědé pevné látky. Pevná látka byla nabrána do 800 ml ohřátého THF a za míchání bylo přidáno 600 ml suchého silikagelu. K této suspenzi bylo přidáno 1,2 l hexanu a směs byla vakuově filtrována přes krátký sloupec 300 ml silikagelu ve velkém filtru s fritou. Silikagel byl dále promyt 2 l 40% THF v hexanu. Filtráty byly spojeny a koncentrovány při sníženém tlaku za vzniku pevné látky. Pevná látka byla dále triturována ~100 ml ethylacetátu, filtrována a usušena při sníženém tlaku za vzniku 36,1 g (48% výtěžek) 6-jod-1H-indazolu jako světle hnědé pevné látky: R_f sm 0,12, p 0,48 (směs hexanu a EtOAc 1:1), ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 7,9 (s, 1H), 7,8 (s, 1H), 7,42 (d, 1H), 7,33 (d, 1H), MS (ES) [M+H]/z vypočteno 245, změřeno 245, [M-H]/z vypočteno 243, změřeno 243.

(ii)



K roztoku 7,35 g (30,1 mmol, 1 ekv.) 6-jod-1H-indazolu ve 100 ml THF ochlazeného na 0 °C v argonové atmosféře bylo přidáno 2,89 g (30,1 mmol, 1 ekv.) t-butoxidu sodného. Byla pozorována změna barvy z oranžové na červenou. V jedné dávce bylo přidáno 6,60 g (30,1 mmol, 1 ekv.) mesitylensulfonylchloridu a ledová lázeň byla odstraněna a reakční směs byla ponechána ohřát se na 23 °C. Po 40 minutách byla směs zastavena saturem chloridem amonným a rozdělena mezi vodu a ethylacetát. Vodná vrstva byla extrahována celkem 3 krát ethylacetátem. Spojené organické látky byly promyty solankou, usušeny nad sulfátem sodným a koncentrovány při sníženém tlaku za vzniku 12,8 g (100 % výtěžek, směs 2:1) 6-jod-1-(2,4,6-trimethylbenzensulfonyl)-1H-indazolu jako oranžové pevné látky. ^1H NMR (CDCl_3) 8,51 (s, 1H), 7,95 (s, 0,66H, hlavní izomer), 7,91 (s, 0,33H, vedlejší izomer), 7,47 (d, 0,33H, $J = 8,4$ Hz), 7,29 (d, 0,33H, $J = 8,4$ Hz), 7,26 (d, 0,66H, $J = 8,9$ Hz), 7,18 (d, 0,66H, 8,9 Hz), 6,84 (s, 2H), 2,51 (s, 6H), 2,15 (s, 3H).

(iii)



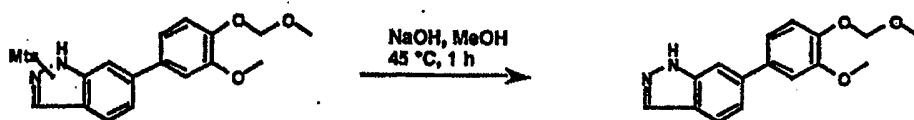
Směs 5,78 g (13,56 mmol, 1,00 ekv.) 6-jod-1-(2,4,6-trimethylbenzensulfonyl)-1H-indazolu a 3,45 g (16,27 mmol, 1,20 ekv.) 3-methoxy-4-(methoxymethoxy)benzenboronové kyseliny v argonové atmosféře byla rozpuštěna v 15 ml dioxanu a 2,0 ml vody. K tomuto roztoku bylo přidáno 2,83 ml (20,3 mmol, 1,5 ekv.) triethylaminu, 2,8 g (20,3 mmol, 1,5 ekv.) uhličitanu draselného a 476 mg (0,678 mmol, 0,05 ekv.) dichlorbis(tri-fenylfosfin)palladia. Reakční směs byla zahřívána na 90 °C po dobu 2 hodin, a pak byla ochlazená na 23 °C. Směs byla

oddělena mezi 250 ml ethylacetátu a 150 ml saturovaného hydrouhličitanu sodného. Organická látka byla usušena nad sulfátem sodným, dekantována a koncentrována při sníženém tlaku za vzniku surového 6-(3-methoxy-4-methoxymethoxyfenyl)-1-(2,4,6-trimethylbensensulfonyl)-1H-indazolu, který byl sušen za vysokého vakua po dobu 15 hodin a byl použit bez další purifikace.

3-methoxy-4-(methoxymethoxy)benzenboronová kyselina byla připravena takto: v baňce o objemu 100 ml byla připravena směs 50% KOH ve vodě (20 g KOH, 7 ekv., 20 g ledu) v argonové atmosféře. K této rychle míchané směsi při teplotě 0 °C (udržované v ledové lázni) bylo přidáno 50 ml dichlormethanu, pak následovalo 10,1 g (50 mmol, 1,00 ekv.) 4-brom-2-methoxyfenolu, 4,00 ml (42,5 mmol, 1,05 ekv.) methoxymethylchloridu (MOMCl) a 322 mg (1 mmol, 0,02 ekv.) tetrabutylamoniumbromidu. Lázeň byla odstraněna a směs byla pomalu ponechána ohřát se na 23 °C za rychlého míchání po dobu 2 hodin. Směs byla přenesena do dělicí nálevky a naředěna 350 ml dichlormethanu a 300 ml vody, které jsou použity k usnadnění přenosu. Organická látka (nyní spodní vrstva) byla oddělena, usušena nad sulfátem sodným, dekantována a koncentrována při sníženém tlaku za vzniku 11,9 g (97 %) 4-brom-2-methoxy-1-(methoxymethoxy)benzenu jako žluté kapaliny, která je přečištěna ¹H NMR: ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,0 (s, 3H), 5,13 (s, 2H), 3,84 (s, 3H), 3,47 (s, 3H). MS (EI) [M+H]⁺/z vypočteno 235, změřeno 235. Do baňky s kulatým dnem o objemu 50 ml bylo nabráno 4,80 g (19,4 mmol, 1,00 ekv.) 4-brom-2-methoxy-1-(methoxymethoxy)benzenu v 35 ml THF a bylo ochlazené na -78 °C (20 minut pro tento objem). K této směsi bylo přidáno 12,75 ml 1,6M v hexanu (20,4 mmol, 1,05 ekv.) n-BuLi a směs byla ponechána za míchání v -78 °C po dobu 40 minut. Směs pak byla přidána kanylou do druhé baňky obsahující 22 ml (194 mmol, 10 ekv.) B(OMe)₃ v 50 ml THF v -78 °C. Po 20 minutách byla

chladná lázeň odstraněna. Po 15 minutách zahřívání ($\sim 0^\circ\text{C}$, led na boku baňky začal tát) bylo přidáno 50 ml vody k reakční směsi, která byla míchána po dobu 45 minut. Směs byla koncentrována při sníženém tlaku, aby se odstranila většina THF, a pak byla rozdělena mezi 300 ml ethylacetátu a 150 ml vody, která byla acidifikována přidáním malého množství, ~ 10 ml, 20% kyseliny citronové. Organická látka byla usušena nad sulfátem sodným a koncentrována při sníženém tlaku za vzniku pevné látky. Triturace 10 ml ethylacetátu a 5 ml hexanu následovaná filtrací poskytla 3,15 g (77 %) 3-methoxy-4-(methoxymethoxy)benzenboronové kyseliny jako bílé pevné látky: R_f sm 0,59, p 0,18 (směs ethylacetátu a hexanu 1:1), ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,85 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 7,72 (s, 1H), 7,22 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 5,30 (s, 2H), 4,00 (s, 3H), 3,55 (s, 3H).

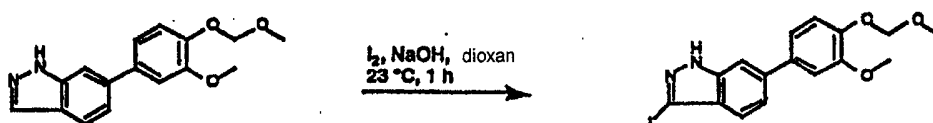
(iv)



Nepurifikovaný 6-(3-methoxy-4-methoxymethoxyfenyl)-1-(2,4,6-trimethylbenzensulfonyl)-1H-indazol (v argonové atmosféře) byl rozpuštěn ve 20 ml THF a byl podroben působení 70 ml 1N NaOH v MeOH (odplyněno probubláváním přes argon po dobu 3 až 5 minut). Směs byla zahřívána na 45°C po dobu 1 hodiny a ponechána vychladnout. Směs byla neutralizována přidáním 50 ml 1N HCl, pak následovalo 200 ml saturovaného hydrouhličitanu sodného. Produkt byl extrahován 350 ml ethylacetátu, usušen nad sulfátem sodným a koncentrován při sníženém tlaku za vzniku surového 6-(3-methoxy-4-methoxymethoxyfenyl)-1H-indazolu. Purifikace chromatografií na silikagelu (500 ml silikagelu, 1,8 l 20% ethylacetátu v benzenu, 1,8 l 30% ethylacetátu v benzenu) poskytla 1,19 g

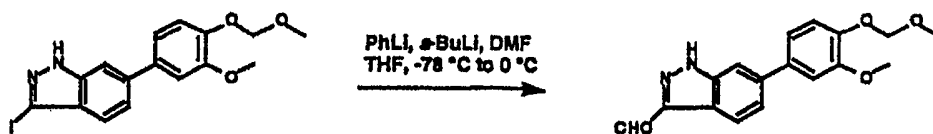
(31 %) 6-(3-methoxy-4-methoxymethoxyfenyl)-1H-indazolu: ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,80 (s, 1 H), 7,69 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,52 (s, 1H), 7,29 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,16 (s, 1H), 7,13 (s, 1H), 7,08 (s, 1H). MS (ES) $[\text{m}+\text{Na}]/z$ vypočteno 337, změřeno 337, $[\text{m}+\text{Cl}^-]/z$, vypočteno 349, změřeno 349.

(v)



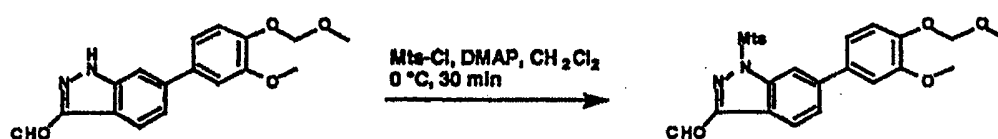
V baňce s kulatým dnem o objemu 100 ml v argonové atmosféře bylo rozpuštěno 1,19 g (4,18 mmol, 1 ekv.) 6-(3-methoxy-4-methoxymethoxyfenyl)-1H-indazolu ve 25 ml dioxanu a 14 ml 3N NaOH. Tato směs byla podrobena působení 1,17 g (14,60 mmol, 1,10 ekv.) jodu, přidávaného v ~5 dávkách (~10 minut). Několik dalších dávek (~4) jodu po 50 mg bylo přidáváno, dokud nebyla reakce ukončena, jak bylo vizualizováno TLC (3:7 směs ethylacetátu a hexanu). Směs byla acidifikována 25 ml 20% kyseliny citronové a bylo přidáno 20 ml 5% NaHSO_3 . Směs byla rozdělena mezi 150 ml ethylacetátu a 100 ml vody. Organická látka byla promyta 80 ml saturovaného hydrouhličitany sodného a 50 ml solanky a byla usušena nad sulfátem sodným a koncentrována při sníženém tlaku. Purifikace krystalizací ze 3 ml ethylacetátu, a pak 7 ml hexanu poskytla 1,33 g (78 %) čistého 3-jod-6-(3-methoxy-4-methoxymethoxyfenyl)-1H-indazolu jako pevné látky: ^1H NMR (CDCl_3) δ 10,48 (š s, 1H), 7,62 (s, 1H), 7,57 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,47 (dd, 1H, $J = 1,3, 8,5$ Hz), 7,18 (m, 3H), 5,29 (s, 2H), 3,99 (s, 3H), 3,55 (s, 3H).

(vi)



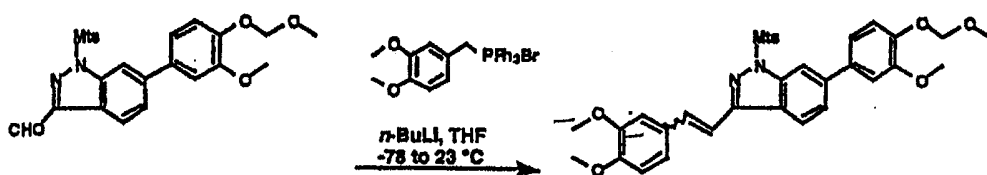
V baňce s kulatým dnem o objemu 100 ml bylo rozpuštěno 921 mg (2,245 mmol, 1,00 ekv.) 3-jod-6-(3-methoxy-4-methoxymethoxyfenyl)-1H-indazolu ve 36 ml THF a ochlazeno na -78 °C (ponecháno 8 minut v tomto množství). Bylo přidáno 2,5 ml 1,8M roztoku (4,49 mmol, 2,00 ekv.) PhLi a směs byla ponechána za míchání po dobu 30 minut. Bylo přidáno 3,63 ml (4,71 mmol, 2,1 ekv.) roztoku s-BuLi a reakční směs byla ponechána za míchání po dobu 1 hodiny v -78 °C. Bylo přidáno 1,4 ml (18 mmol, 8,0 ekv.) čistého DMF. Chladná lázeň byla odstraněna a reakce byla ponechána ohřát se pomalu na 0 °C na vzduchu. Když led roztál, bylo přidáno 20 ml saturovaného hydrouhličitanu sodného. Produkt byl extrahován 200 ml ethylacetátu z dalších 75 ml saturovaného hydrouhličitanu sodného, usušen nad sulfátem sodným, dekantován a koncentrován při sníženém tlaku. Purifikace chromatografií na silikagelu (450 ml silikagelu, 4:6 směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 498 mg (71 %) 6-(3-methoxy-4-methoxymethoxyfenyl)-1H-indazol-3-karbaldehydu: R_f sm 0,30, p 0,14 (směs ethylacetátu a hexanu 4:6), ^1H NMR (CDCl_3) δ 10,85 (š s, 1H), 10,25 (s, 1H), 8,37 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,67 (s, 1H), 7,60 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,26 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 7,19 (m, 2H), 5,30 (s, 2H), 3,99 (s, 3H), 3,55 (s, 3H).

(vii)



441 mg (1,41 mmol, 1,0 ekv.) 6-(3-methoxy-4-methoxy-methoxyfenyl)-1H-indazol-3-karbaldehydu bylo nabráno jako suspenze do 15 ml dichlormethanu a bylo ochlazeno na 0 °C. Tato směs byla podrobena působení 324 mg (1,48 mmol, 1,05 ekv.) mesitylensulfonylchloridu a 181 mg (1,48 mmol, 1,05 ekv.) dimethylaminopyridinu (DMAP). Směs byla ponechána za míchání po dobu 1 hodiny při teplotě 0 °C a byla zastavena přidáním vody. Směs byla rozdělena mezi vodu a organickou vrstvu směsi ethylacetátu a hexanu 1:1. Organická látka byla usušena nad sulfátem sodným, dekantována a koncentrována při sníženém tlaku za vzniku surové látky, která byla purifikována chromatografií na silikagelu (50 ml silikagelu, 3:7 směs ethylacetátu a hexanu) za vzniku 374 mg (54 %) 6-(3-methoxy-4-methoxymethoxyfenyl)-1-(2,4,6-trimethylbenzensulfonyl)-1H-indazol-3-karbaldehydu: R_f sm 0,17, p 0,53 (směs ethylacetátu a hexanu 4:6), ^1H NMR (CDCl_3) δ 10,20 (s, 1H), 8,41 (s, 1H), 8,37 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,73 (dd, 1H, $J = 1,4, 8,4$ Hz), 7,3 (m, 3H), 7,08 (s, 2H), 5,36 (s, 2H), 4,08 (s, 3H), 3,71 (s, 3H), 2,74 (s, 6H), 2,40 (s, 3H).

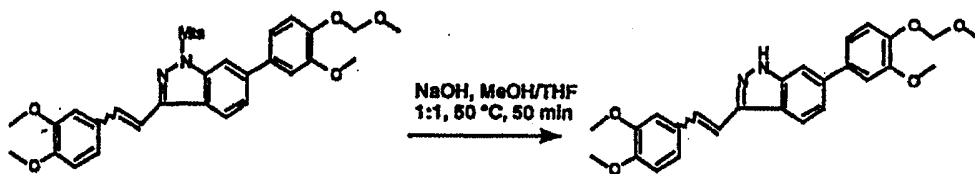
(viii)



1,09 g (2,22 mmol, 4,0 ekv.) jemně mletého trifenyl(3,4-dimethoxybenzyl)fosfoniumbromidu bylo nabráno jako suspenze do 15 ml THF a bylo ochlazeno na -78 °C. K této směsi bylo přidáno 1,04 ml 1,6M (1,66 mmol, 3,0 ekv.) $n\text{-BuLi}$ za vzniku červenooranžového roztoku. Směs byla ponechána ohřát se na 23 °C po dobu 1 hodiny. Tato směs pak byla při teplotě 0 °C přidána kanylou k roztoku 274 mg (0,554 mmol, 1,0 ekv.) 6-(3-

methoxy-4-methoxymethoxyfenyl)-1-(2,4,6-trimethylbenzen-sulfonyl)-1H-indazol-3-karbaldehydu v 5 ml THF. Výsledná směs byla ponechána za míchání při teplotě 0 °C po dobu 10 minut a byla zastavena saturovaným hydrouhličitánem sodným. Výsledná směs byla rozdělena mezi saturovaný hydrouhličitán sodný a ethylacetát. Organická látka byla koncentrována při sníženém tlaku a zbytek byl purifikován chromatografií na silikagelu (50 ml silikagelu, 3:7-> 4:6 směs ethylacetátu a hexanu) za vzniku 289 mg (83 %) 2,5:1 směsi cis/trans 3-[2-(3,4-dimethoxyfenyl)vinyl]-6-(3-methoxy-4-methoxymethoxyfenyl)-1-(2,4,6-trimethylbenzensulfonyl)-1H-indazolu: R_f sm 0,53, p 0,32 (směs ethylacetátu a hexanu 4:6), ^1H NMR (CDCl_3) δ 8,35 (s, 0,3H), 8,32 (s, 0,7H), 8,03 (d, 0,3H, $J = 8,4$ Hz), 6,60-6,85 (m, H), 6,65 (d, 0,7H, $J 8,4$ Hz), 6,60 (d, 0,7H, $J = 12,5$ Hz), 5,30 (s, 0,6H), 5,29 (s, 1,4H), 4,00-3,50 (8 singletů, 12H), 2,72 (s, 1,8H), 2,67 (s, 4,2H), 2,34 (s, 3H), MS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 629, změřeno 629, $[\text{M}-\text{H}]/z$ vypočteno 627, změřeno 627.

(ix)

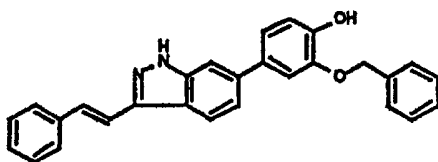


Roztok 1,0 g (17,8 mmol) 1M KOH ve směsi vody a MeOH 1:1 (18 ml celkem) byl připraven v argonové atmosféře a byl odplyněn cykly vakuum/argon (5 krát). V samostatné baňce bylo rozpuštěno 289 mg (0,461 mmol, 1,0 ekv.) 3-[2-(3,4-dimethoxyfenyl)vinyl]-6-(3-methoxy-4-methoxymethoxyfenyl)-1-(2,4,6-trimethylbenzensulfonyl)-1H-indazolu v 8 ml THF v argonové atmosféře. K tomuto roztoku bylo přidáno 10 ml výše uvedeného 1M roztoku KOH ve směsi vody a MeOH 1:1. Reakce byla

zahřáta na 30 °C a byla ponechána za míchání po dobu 7 hodin. Reakční směs byla neutralizována přidáním 7 ml 20% kyseliny citronové. Výsledná směs byla rozdělena mezi 150 ml ethylacetátu a 100 ml vody. Organická látka byla oddělena, usušena nad sulfátem sodným, dekantována a koncentrována při sníženém tlaku za vzniku cis a trans 3-[2-(3,4-dimethoxyfenyl)vinyl]-6-(3-methoxy-4-methoxymethoxyfenyl)-1H-indazolu (použit surový produkt): R_f sm 0,46, p_1 0,17, p_2 0,23 (směs ethylacetátu a hexanu 1:1), ^1H NMR cis izomer (CDCl_3) δ 7,55 (s, 1H), 7,3-7,1 (m, 6H), 7,02 (dd, 1H, $J = 1,9, 8,3$ Hz), 6,85 (d, 1H, $J = 12,5$ Hz), 6,78 (d, 1H, $J = 12,5$ Hz), 6,74 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz), 5,21 (s, 2H), 3,88 (s, 3H), 3,70 (s, 3H), 3,43 (s, 3H), 3,42 (s, 3H). MS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 447, změřeno 447, $[\text{M}-\text{H}]/z$ vypočteno 445, změřeno 445.

Příklad 1(b)

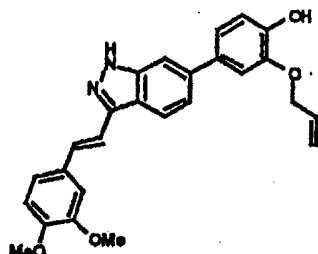
3-(E-styryl)-6-(3-benzyloxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 1(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 1(a) kromě toho, že 4-brom-2-benzyloxyfenol byl použit v kroku (iii) namísto 4-brom-2-methoxyfenolu. R_f sm 0,35, p 0,30 (směs ethylacetátu a hexanu 4:6), ^1H NMR (CDCl_3) δ 8,06 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz), 7,63-7,18 (m, 17H), 7,05 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz), 5,19 (s, 2H). MS (Cn) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 419, změřeno 419, $[\text{M}-\text{H}]/z$ vypočteno 417, změřeno 417.

Příklad 1(c)

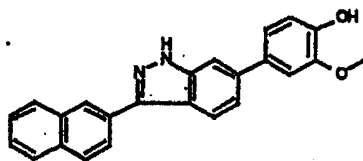
3-[E-2-(3,4-dimethoxyfenyl)vinyl]-6-(3-allyloxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 1(c) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 1(a) kromě toho, že 3-allyloxy-4-(methoxymethoxy)benzenboronová kyselina byla použita namísto 3-methoxy-4-(methoxymethoxy)benzenboronové kyseliny v kroku (iii). MS (ESI) $[M+H]^+/z$ vypočteno 429, změřeno 429, MS (ESI) $(M-H)^-/z$ vypočteno 427, změřeno 427.

Příklad 2(a)

3-(naftalen-2-yl)-6-(3-methoxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol

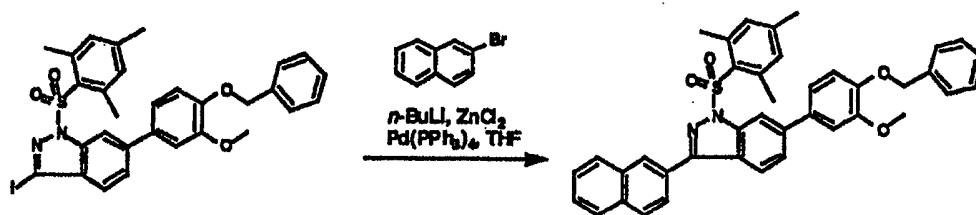


25 mg (0,055 mmol) 6-(4-benzyloxy-3-methoxyfenyl)-3-naftalen-2-yl-1H-indazolu bylo rozpuštěno ve směsi 2 ml ethylacetátu, 2 ml benzenu a 2 ml methanolu. K tomuto roztoku bylo přidáno 25 mg 10% (hmotnostních) palladia na uhlí a reakční nádoba byla odplyněna cykly vakuum/vodík (pět cyklů). Reakční směs byla ponechána za míchání po dobu 3 dnů ve 23 °C a byla filtrována přes krátký sloupec celitu. Koncentrace a purifikace chromatografií na silikagelu poskytla 8 mg (40 %) 3-(naftalen-2-yl)-6-(3-methoxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazolu: ^1H

NMR (CDCl₃) δ 10,3 (b s, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,20 (d, 1H, J = 8 Hz), 7,98 (d, 1H, J = 8 Hz), 7,90 (m, 1H), 7,7-6,8 (m, 9H), 3,98 (s, 3H). MS (ES) [M+H]⁺/z vypočteno 367, změřeno 367, [M-H]⁻/z vypočteno 365, změřeno 365.

Výchozí látka byla připravena takto:

(i)

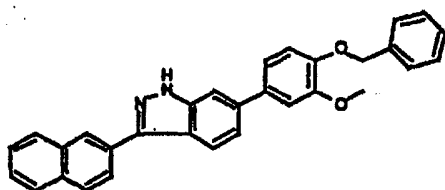


117 mg (0,564 mmol, 6,0 ekv.) 2-bromnaftalenu bylo rozpuštěno v 0,75 ml THF a ochlazeno na -78 °C. Směs byla podrobena působení 226 μ l 2,5M (6,0 ekv.) *n*-BuLi a byla ponechána za míchání v -78 °C po dobu 30 minut. Směs pak byla kanylou přidána ke 139 mg (0,80 mmol, 8,5 ekv.) čerstvě usušeného pevného ZnCl₂ a výsledná směs byla ponechána ohřát se na 23 °C (během přidávání vymizelo žluté zbarvení). Po 30 minutách ve 23 °C byla směs přidána kanylou ke směsi 60 mg (0,094 mmol, 1 ekv.) 6-(4-benzyloxy-3-methoxyfenyl)-3-jod-1-(2,4,6-trimethylbenzensulfonyl)-1H-indazolu a 6 mg (0,005 mmol, 0,05 ekv.) Pd(PPh₃)₄. Výsledný roztok byl ponechán za míchání po dobu 16 hodin. Byl přidán saturovaný hydrouhličitán sodný a směs byla rozdělena mezi 15 ml saturovaného hydrouhličitánu sodného a 15 ml ethylacetátu. Organická látka byla usušena nad sulfátem sodným, dekantována a koncentrována. Purifikace chromatografií na silikagelu (1:9-2:8 směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 42 mg (70 %) 6-(4-benzyloxy-3-methoxyfenyl)-3-naftalen-2-yl-1-(2,4,6-trimethylbenzen-sulfonyl)-1H-indazolu jako pevné látky: R_f sm 0,4, p 0,4 (směs ethylacetátu a hexanu 3:7), ¹H NMR (CDCl₃) δ 8,44 (s, 1H), 8,41

(s, 1H), 8,12 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 8,05-7,00 (m, 17H), 5,30 (s, 2H), 4,02 (s, 3H), 2,80 (s, 3H), 2,34 (s, 3H).

6-(4-benzyloxy-3-methoxyfenyl)-3-jod-1-(2,4,6-trimethylbenzensulfonyl)-1H-indazol byl připraven podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 1(a), kroky (i) až (v).

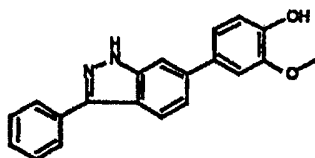
(ii)



6-(4-benzyloxy-3-methoxyfenyl)-3-naftalen-2-yl-1-(2,4,6-trimethylbenzensulfonyl)-1H-indazol byl konvertován na 6-(4-benzyloxy-3-methoxyfenyl)-3-naftalen-2-yl-1H-indazol, jak bylo popsáno v příkladu 1(a), krok (ix). R_f sm 0,40, p 0,17 (směs ethylacetátu a hexanu 3:7), ^1H NMR (CDCl_3) δ 8,40 (s, 1H), 8,12 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 8,10 (dd, 1H, $J = 1,6, 8,4$ Hz), 7,93 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz), 7,88 (m, 2H), 7,61 (m, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,43 (m, 5H), 7,30 (m, 3H), 7,15 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 7,08 (dd, 1H, $J = 2,1, 8,3$ Hz), 6,91 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz), 5,16 (s, 2H), 3,91 (s, 3H).

Příklad 2(b)

3-fenyl-6-(3-methoxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol

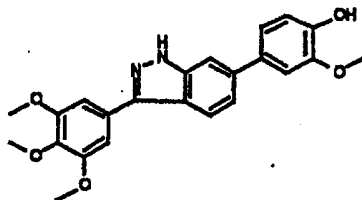


Sloučenina z příkladu 2(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 2(a) kromě toho, že

fenyllithium bylo použito namísto 2-naftyllithia vzniklého z 2-bromnaftylenu v kroku (i). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,87 (d, 1H), 7,83 (d, 2H), 7,55-7,27 (m, 5H), 7,01 (m, 2H), 6,80 (d, 1H), 3,83 (s, 3H). MS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 317, změřeno 317, $[\text{M}-\text{H}]/z$ vypočteno 315, změřeno 315.

Příklad 2(c)

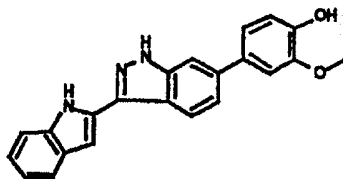
3-(3,4,5-trimethoxyfenyl)-6-(3-methoxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 2(c) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 2(a) kromě toho, že 3,4,5-trimethoxyfenylbromid byl použit v kroku (i) namísto 2-bromnaftylenu. R_f sm 0,67, p 0,38 (směs ethylacetátu a hexanu 8:2), ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,93 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 7,58 (s, 1H), 7,39 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 7,10 (m, 4H), 6,92 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 3,90 (s, 9H), 3,85 (s, 3H), MS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 407, změřeno 407, $[\text{M}-\text{H}]/z$ vypočteno 405, změřeno 405.

Příklad 2(d)

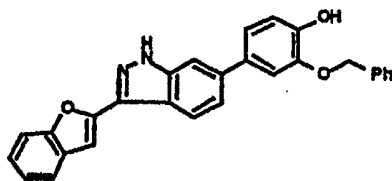
3-(1H-indol-2-yl)-6-(3-methoxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 2(d) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 2(a) uvedeném výše, kromě toho, že 1-fenylsulfonylindazol byl použit namísto 2-bromnaftylenu v kroku (i). R_f sm 0,20, p 0,15 (směs ethylacetátu a hexanu 4:6), ^1H NMR (CDCl_3) δ 10,0 (š s, 1H), 9,05 (š s, 1H), 8,01 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,55 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,49 (s, 1H), 7,37 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 7,29 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 7,2-7,1 (m, 5H), 6,92 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 5,63 (š s, 1H), MS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 356, změřeno 356, $[\text{M}-\text{H}]/z$ vypočteno 354, změřeno 354.

Příklad 2(e)

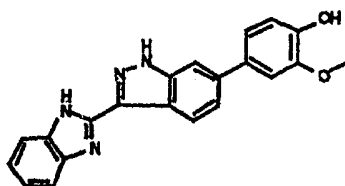
3-(benzofuran-2-yl)-6-(3-benzyloxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 2(e) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 2(a) uvedeném výše, kromě toho, že benzofuran byl použit namísto 2-bromnaftylenu v kroku (i). ^1H NMR (CDCl_3) δ 8,21 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,60 (m, 3H), 7,30-7,10 (m, 12H), 7,01 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 5,82 (š s, 1H), 5,15 (s, 3H).

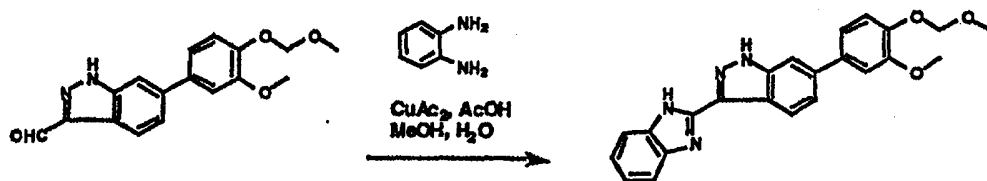
Příklad 3

3-(1H-indol-2-yl)-6-(3-methoxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



3-(1H-benzimidazol-2-yl)-6-(3-methoxy-4-methoxymethoxy-fenyl)-1H-indazol byl konvertován na 3,5 mg (28 %) 4-[3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1H-indazol-6-yl]-2-methoxyfenolu podle postupu popsaného v příkladu 1(a). HRMS (FAB) $[M+H]^+/z$ vypočteno 357,1351, změřeno 357,1349.

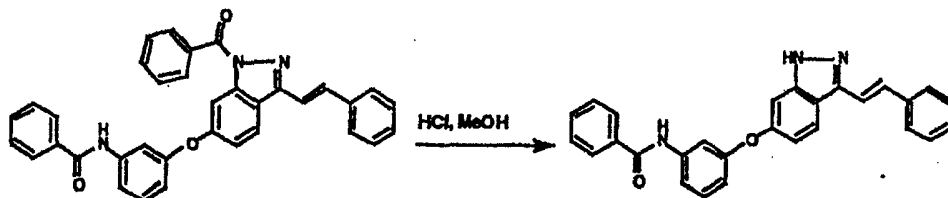
Výchozí látka byla připravena takto:



20 mg (0,064 mmol, 1 ekv.) 6-(3-methoxy-4-methoxymethoxy-fenyl)-1H-indazol-3-karbaldehydu (z příkladu 1(a), krok (vi)) bylo rozpuštěno v 0,7 ml odplyněné směsi MeOH a vody 1:1 a bylo podrobeno působení 19 μl (5 ekv.) octové kyseliny, 8,3 mg (1,2 ekv.) 1,2-diaminobenzenu a 18 mg (1,4 ekv.) octanu měďnatého ve 23 °C. Směs byla míchána po dobu 30 minut, byla naředěna 3 ml ethanolu a 2 ml vody a byla podrobena probublávání proudem SH_2 po dobu 3 minut, což poskytlo černý precipitát. Směs byla ponechána za míchání po dobu 12 hodin. Směs byla filtrována a koncentrována. Purifikace chromatografií na silikagelu (6:4 směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 14 mg (54 %) 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-6-(3-methoxy-4-methoxymethoxyfenyl)-1H-indazolu jako pevné látky, R_f sm 0,39, p 0,24 (směs ethylacetátu a hexanu 6:4), ^1H NMR (CDCl_3) δ 8,69 (d, 1H, $f = 8$ Hz), 7,70 (š s, 2H), 7,58 (s, 1H), 7,53 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 7,30-7,15 (m, 7H), 5,30 (s, 2H), 3,97 (s, 3H), 3,58 (s, 3H), MS (ES) $[M+H]^+/z$ vypočteno 401, změřeno 401, $[M-H]^+/z$ vypočteno 399, změřeno 399.

Příklad 4(a)

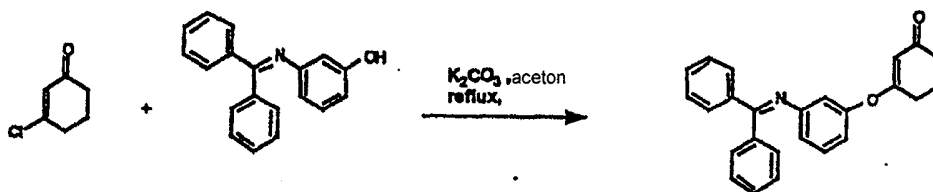
N-[3-(3-styryl-1H-indazol-6-yloxy)fenyl]benzamid



Roztok 0,09 g (0,17 mmol) N-[3-(2-benzoyl-3-styryl-1H-indazol-6-yloxy)fenyl]benzamidu ve 2 ml 6N vodné HCl a 3 ml MeOH byl zahříván v 65 °C po dobu přibližně 4 hodin. Ochlazený roztok byl nalit opatrně do saturovaného roztoku hydrouhličitany sodného. Precipitát byl filtrován, sbírán a podroben chromatografii na silikagelu za eluce směsí hexanu a EtOAc (1:1). Bylo získáno 32 mg (50 %) N-[3-(3-styryl-1H-indazol-6-yloxy)fenyl]benzamidu jako béžové pevné látky: ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,50 (s, 1H), 10,32 (s, 1H), 8,23 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 7,92 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz), 7,72 (d, 2H, $J = 7,3$ Hz), 7,71–7,51 (m, 7H), 7,51–7,47 (m, 3H), 7,30 (t, 1H, $J = 7,2$ Hz), 7,05 (s, 1H), 7,01 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 6,86 (dd, 1H, $J = 8,2, 2,3$ Hz). Anal. výpočet pro $\text{C}_{28}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot 0,3\text{H}_2\text{O}$: C, 76,97, H, 4,98; N, 9,62. Změřeno: C, 76,94, H, 5,13, N, 9,40.

Výchozí látka byla připravena takto:

(i)

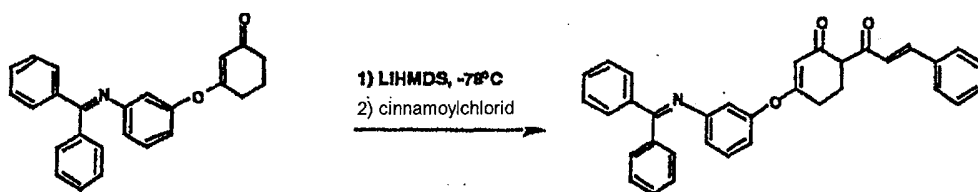


Suspenze 10,47 g (38,3 mmol) 3-(benzhydryliden-amino)fenolu, 5,00 g (38,3 mmol) 3-chlorocyklohex-2-enonu a 5,82 g (42,1 mmol) uhličitany draselného ve 150 ml acetonu byla přes noc zahřívána k varu pod zpětným chladičem.

Ochlazená reakční směs byla filtrována a koncentrována za sníženého tlaku. Zbytek byl podroben chromatografii na silikagelu za eluce směsí hexanu a EtOAc (2:1). Tímto způsobem bylo získáno 8,82 g (63 %) 3-[3-(benzhydryliden-amino)fenoxy]cyklohex-2-enonu jako žluté pevné látky: ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,78 (d, 2H, $J = 7,0$ Hz), 7,50 (d, 1H, $J = 7,1$ Hz), 7,45 (d, 2H, $J = 7,7$ Hz), 7,34-7,10 (m, 6H), 6,69 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 6,61 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 6,38 (s, 1H), 4,89 (s, 1H), 2,55 (t, 2H, $J = 6,2$ Hz), 2,34 (t, 2H, $J = 6,2$ Hz), 2,06 (m, 2H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{NO}_2 \cdot 0,2\text{H}_2\text{O}$: C, 80,92, H, 5,81, N, 3,78. Změřeno: C, 81,12, H, 5,81, N, 3,72.

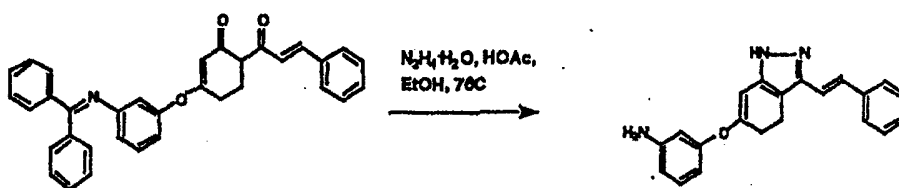
3-(benzhydrylidenamino)fenol byl připraven takto: míchaný roztok 15,0 g (82,8 mmol) benzofenoniminu a 9,03 g (82,8 mmol) 3-aminofenolu ve 25 ml toluenu byl zahříván k varu pod zpětným chladičem s odstraněním H_2O Dean-Starkovým jímadlem po dobu 3,5 hodiny. Krystaly, které vznikly z ochlazené reakční směsi, byly sbírány vakuovou filtrací, promyty hexanem a usušeny na vzduchu. Tímto způsobem bylo získáno 17,3 g (76 %) 3-(benzhydrylidenamino)fenolu jako světle žluté pevné látky: ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,64 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz), 7,38 (d, 1H, $J = 7,1$ Hz), 7,34-7,15 (m, 7H), 7,04 (d, 2H, $J = 7,2$ Hz), 6,88 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz), 6,82 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz), 6,23 (s, 1H), 6,21 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz). Anal. výpočet pro $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{NO}$: C, 83,49, H, 5,53, N, 5,12. Změřeno: C, 83,51, H, 5,65, N, 5,03.

(ii)



Roztok 4,37 g (11,89 mmol) 3-[3-(benzhydryliden-amino)fenoxy]cyklohex-2-enonu ve 20 ml THF byl přidán pomalu k 25,0 ml roztoku LiHMDS (1,0M roztok v THF) v 10 ml THF v -78°C . Pět minut po skončení přidávání bylo najednou přidáno 1,98 g (11,89 mmol) trans-cinnamoylchloridu a míchání pokračovalo v -78°C po dobu 30 minut. Reakce byla zastavena saturovaným roztokem NH_4Cl a extrahována EtOAc (2 x). Spojené organické vrstvy byly promyty saturovaným roztokem NaCl, usušeny (MgSO_4) a koncentrovány při sníženém tlaku. Zbytek byl podroben chromatografii na silikagelu za eluce směsí hexanu a EtOAc (5:1). Tímto způsobem bylo získáno 3,34 g (56 %) 3-[3-(benzhydrylidenamino)fenol]-6-(3-fenylakryloyl)cyklohex-2-enonu jako žlutooranžové pevné látky: ^1H NMR(CDCl_3) δ 15,69 (s, 1H), 7,80 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz), 7,63–7,01 (m, 15H), 6,93 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz), 6,75 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz), 6,66 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 6,46 (s, 1H), 4,92 (s, 1H), 2,85 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz), 2,62 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz). Anal. výpočet pro $\text{C}_{34}\text{H}_{27}\text{NO}_3$: C, 82,07, H, 5,47, N, 2,82. Změřeno: C, 81,88, H, 5,53, N, 2,81.

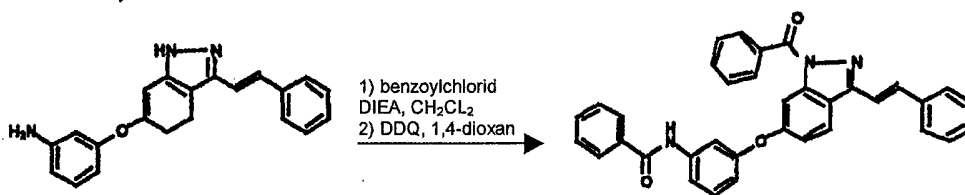
(iii)



K míchanému roztoku 1,81 g (3,64 mmol) 3-[3-(benzhydrylidenamino)fenol]-6-(3-fenylakryloyl)cyklohex-2-enonu rozpuštěnému v 10 ml směsi HOAc/EtOH (1:1) byly přidány 2,0 ml (41,23 mmol) hydrátu hydrazinu. Roztok byl zahříván v 75°C po dobu 25 minut. Po ochlazení byla reakční směs opatrně nalita do saturovaného roztoku hydrouhličitanu sodného a extrahována EtOAc (2 x). Spojené organické vrstvy byly promyty saturovaným roztokem NaCl, usušeny (MgSO_4) a

koncentrovány při sníženém tlaku. Zbytek byl podroben chromatografii na silikagelu za eluce směsí hexanu a EtOAc (1:1). Bylo získáno 539 mg (45 %) 3-(3-styryl-4,5-dihydro-1H-indazol-6-yloxy)fenylaminu jako žluté pevné látky. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 7,55 (d, 2H, $J = 7,2$ Hz), 7,38 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz), 7,27 (t, 1H, $J = 7,2$ Hz), 7,05 (m, 3H), 6,38 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 6,31 (s, 1H), 6,23 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz), 5,52 (s, 1H), 5,26 (s, 2H), 2,92 (t, 2H, $J = 8,0$ Hz), 2,58 (t, 2H, $J = 8,1$ Hz). Anal. výpočet pro $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O} \cdot 0,3\text{H}_2\text{O}$: C, 75,33, H, 5,90, N, 12,55. Změřeno: C, 75,46, H, 5,96, N, 12,35.

(iv)

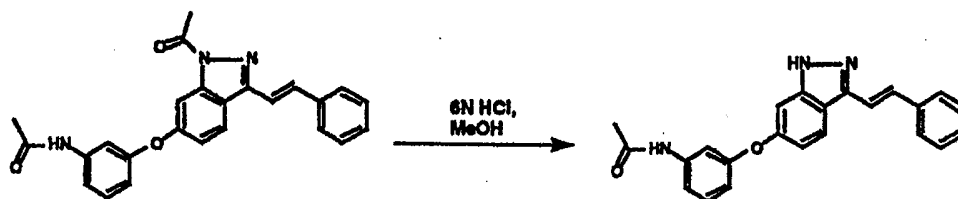


K míchanému roztoku 50 mg (0,15 mmol) 3-(3-styryl-4,5-dihydro-1H-indazol-6-yloxy)fenylaminu a 54 μl (0,31 mmol) N,N -diisopropylethylaminu v 5 ml CH_2Cl_2 bylo přidáno 36 μl (0,31 mmol) benzoylchloridu. Po 15 minutách byla reakční směs naředěna CH_2Cl_2 a promyta postupně 0,5N HCl, saturevaným roztokem hydrouhličitany sodného a solankou, usušena (MgSO_4) a koncentrována při sníženém tlaku. K míchanému roztoku zbytku v 1,4-dioxanu bylo přidáno 35 mg (0,15 mmol) 2,3-dichlor-5,6-dikyano-1,4-benzochinonu (DDQ). Po 1 hodině byla reakční směs koncentrována při sníženém tlaku a zbytek byl podroben chromatografii na silikagelu za eluce směsí hexanu a EtOAc (2:1). Tímto způsobem bylo připraveno 90 mg (kvantitativně) N -[3-(2-benzoyl-3-styryl-1H-indazol-6-yloxy)fenyl]benzamid jako rezavě zbarvené pevné látky: ^1H NMR(CDCl_3) δ 8,13 (s, 1H),

8,02 (d, 2H, $J = 7,0$ Hz), 7,94 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 7,74 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz), 7,57-7,19 (m, 17H), 6,84 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz).

Příklad 4(b)

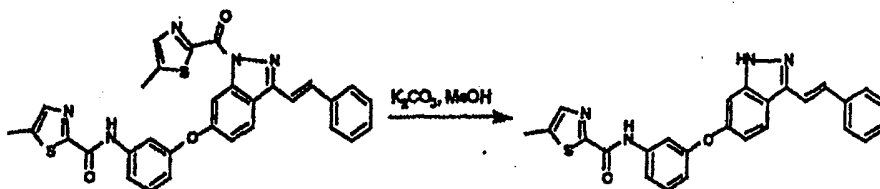
N [3-(3-styryl-1H-indazol-6-yloxy)fenyl]acetamid



Sloučenina z příkladu 4(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 4(a) uvedeném výše, kromě toho, že acetanhydrid byl použit namísto benzoylchloridu v kroku (iv). ^1H NMR(DMSO- d_6) δ 13,08 (š s, 1H), 10,03 (s, 1H), 8,22 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 7,72 (d, 2H, $J = 7,3$ Hz), 7,52 (s, 2H), 7,44-7,27 (m, 6H), 7,01 (s, 1H), 6,96 (dd, 1H, $J = 8,7, 2,1$ Hz), 6,78 (d, 1H, $J = 6,9$ Hz), 2,01 (s, 3H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot 0,25 \text{ H}_2\text{O}$: C, 73,88, H, 5,26, N, 11,24. Změřeno: C, 74,20, H, 5,57, N, 10,82.

Příklad 5(a)

{3-(3-styryl-1H-indazol-6-yloxy)fenyl}amid 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny

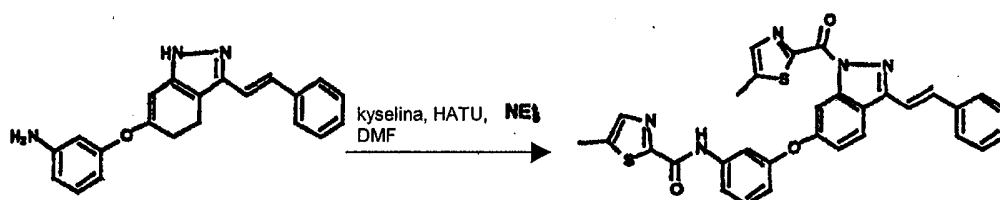


Suspenze 57 mg (0,10 mmol) {3-[1-(5-methylthiazol-2-karbonyl)-3-styryl-1H-indazol-6-yloxy]fenyl}amidu 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny a 50 mg (0,36 mmol) uhličitanu

draselného v MeOH byla míchána ve 23 °C po dobu 20 minut. Roztok byl filtrován, naředěn EtOAc a promyt solankou (2 x). Organická vrstva byla usušena (MgSO_4) a koncentrována při sníženém tlaku. Tímto způsobem byl připraven {3-(3-styryl-1H-indazol-6-yloxy)fenyl}amid 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny jako žlutohnědá pevná látka při výtěžku 47 %: ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 13,00 (s, 1H), 10,80 (s, 1H), 8,23 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 7,79 (s, 2H), 7,71 (t, 2H, $J = 8,6$ Hz), 7,53 (s, 2H), 7,41–7,27 (m, 5H), 7,04 (s, 1H), 7,00 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 6,89 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 2,54 (s, 3H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2\text{S} \cdot 1,15 \text{ H}_2\text{O}$: C, 65,98, H, 4,75, N, 11,84, S, 6,78. Změřeno: C, 65,99, H, 4,71, N, 11,58, S, 6,76.

Výchozí látka byla připravena takto:

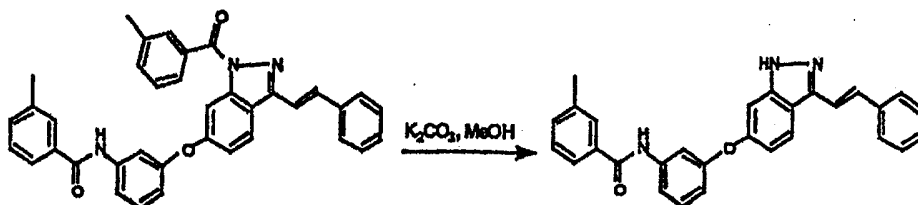
(i)



3-(3-styryl-4,5-dihydro-1H-indazol-6-yloxy)fenylamin byl konvertován na {3-[1-(5-methylthiazol-2-karbonyl)-3-styryl-1H-indazol-6-yloxy]fenyl}amid 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny působením 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny a HATU (o-(2-azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-hexafluorofosfát) v DMF a zpracování, působení DDQ a izolace byly analogické k příkladu 4(a), krok (iv) (50% výtěžek): ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 10,85 (s, 1H), 8,45 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 8,24 (m, 3H), 7,99–7,62 (m, 6H), 7,54–7,34 (m, 5H), 6,96 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 2,64 (s, 3H), 2,54 (s, 3H).

Příklad 5(b)

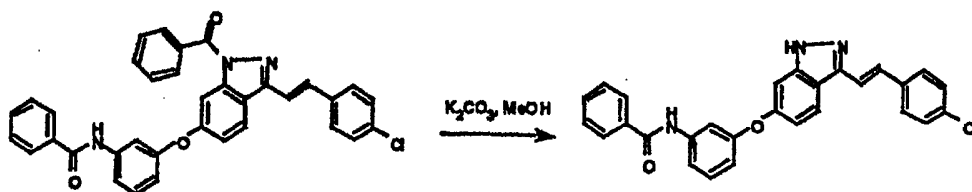
3-methyl-N-[3-(3-styryl-1H-indazol-6-yloxy)fenyl]benzamid



Sloučenina z příkladu 5(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 5(a) uvedeném výše, kromě toho, že m-tolylchlorid byl použit namísto 5-methyl-thiazol-2-karboxylové kyseliny a HATU v kroku (i). ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,04 (s, 1H), 10,28 (s, 1H), 8,23 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 7,73-7,30 (m, 14 H), 7,05 (s, 1H), 6,99 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 6,87 (d, 1H, $J = 7,7$ Hz), 2,38 (s, 3H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{29}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot 0,2 \text{ H}_2\text{O} \cdot 0,2 \text{ hexan}$: C, 77,78, H, 5,66, N, 9,01. Změřeno: C, 77,80, H, 5,84, N, 8,93.

Příklad 6(a)

N-(3-{3-[2-(4-chlorfenyl)vinyl]-1H-indazol-6-yloxy}fenyl)benzamid

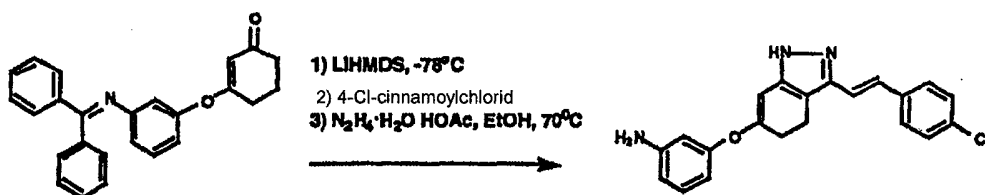


Za použití N-(3-{1-benzoyl-3-[2-(4-chlorfenyl)vinyl]-1H-indazol-6-yloxyl}fenyl)benzamidu byl použit obecný postup z příkladu 5(a) pro přípravu sloučeniny uvedené v názvu jako špinavě bílé pevné látky při 72% výtěžku: ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,07 (s, 1H), 10,32 (s, 1H), 8,24 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 7,92 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz), 7,76 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz), 7,59-7,40 (m, 10H), 7,05 (s, 1H), 7,00 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 6,87 (d, 1H, $J =$

7,9 Hz). Anal. výpočet pro $C_{28}H_{20}ClN_3O_2 \cdot 0,4 H_2O \cdot 0,15 \text{ hexan}$, C, 71,41, H, 4,75, N, 8,65. Změřeno: C, 71,62, H, 14,83, N, 8,45.

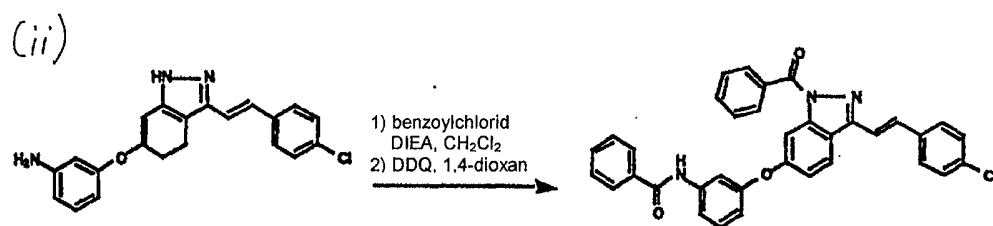
Výchozí látka byla připravena takto:

(i)



Za použití 3-[3-(benzhydrylidenamino)fenoxy]cyklohex-2-enonu a 3-(4-chlorfenyl)akryloylchloridu (připraveného, jak popsáno níže) byl použit obecný postup z příkladu 4(a), krok (ii). Produkt byl použit bez purifikace při cyklizaci hydrazinu, příklad 4(a), krok (iii), za vzniku 3-{3-[2-(4-chlorfenyl)vinyl]-4,5-dihydro-1H-indazol-6-yloxy}fenylaminu jako žluté pevné látky při 30% výtěžku. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 12,45 (s, 1H), 7,58 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz), 7,43 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz), 5,52 (s, 1H), 5,26 (s, 2H), 2,92 (t, 2H, $J = 8,0$ Hz), 2,58 (t, 2H, $J = 8,0$ Hz). Anal. výpočet pro $C_{21}H_{18}ClN_3O \cdot 0,75 H_2O$: C, 66,84, H, 5,21, N, 11,14. Změřeno: C, 66,73, H, 4,89, N, 11,01.

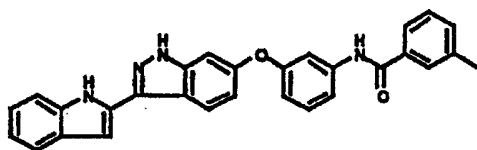
3-(4-chlorfenyl)akryloylchlorid byl připraven takto: k míchané suspenzi 2,51 g (13,77 mmol) 4-chlor-trans-skořicové kyseliny v benzenu bylo přidáno 1,1 ml (15,14 mmol) thionylchloridu a katalytické množství DMAP. Reakční směs byla zahřívána k varu pod zpětným chladičem po dobu 1,5 hodiny. Těkavé látky byly odstraněny při sníženém tlaku. Bílý zbytek byl rozpuštěn v Et_2O a koncentrován opět při sníženém tlaku za vzniku 2,78 g (kvantitativně) 3-(4-chlorfenyl)akryloylchloridu jako bílé pevné látky: ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,81 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz), 7,54 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 7,44 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 6,65 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz).



3-{3-[2-(4-chlorfenyl)vinyl]-4,5-dihydro-1H-indazol-6-yloxy}fenylamin byl konvertován na N-(3-{1-benzoyl-3-[2-(4-chlorfenyl)vinyl]-1H-indazol-6-yloxy}fenyl)benzamid postupem popsaným v příkladu 4(a), krok (iv) (85% výtěžek). ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 10,37 (s, 1H), 8,43 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 8,00-7,39 (m, 21H), 7,34 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 6,93 (d, 1H, J = 8,8 Hz).

Příklad 6(b)

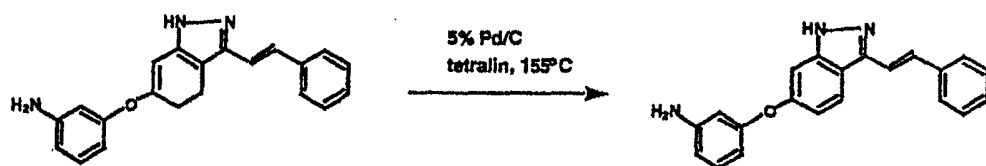
N-{3-[3-(2-indolyl)-1H-indazol-6-yloxy]fenyl}-3-methylbenzamid



Sloučenina z příkladu 6(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 6(a) uvedeném výše, kromě toho, že 1-SEM-indazol-2-karboxylová kyselina byla použita v kroku (i) namísto 4-chlor-trans-skořicové kyseliny. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 13,19 (s, 1H), 11,59 (s, 1H), 10,29 (s, 1H), 8,23 (d, 1H, J = 8,7 Hz), 7,73-7,38 (m, 9H), 7,12 (s, 1H), 7,03 (d, 2H, J = 7,3 Hz), 6,88 (d, 1H, J = 7,8 Hz), 2,38 (s, 1H). HRMS [M+H]/z vypočteno: 459,1821, změřeno 459,1836.

Příklad 7

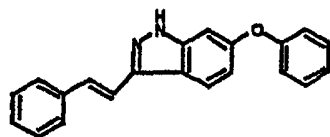
3-(styryl-1H-indazol-6-yloxy)fenylamin



Suspenze 75 mg (0,23 mmol) 3-(3-styryl-4,5-dihydro-1H-indazol-6-yloxy)fenylaminu a 90 mg 5% palladia na uhlí (Pd/C) byla zahřívána ve 155 °C. Po 4 hodinách bylo přidáno ještě 39 mg 5% Pd/C. Po 22 hodinách bylo přidáno ještě 30 mg 5% Pd/C. Reakční směs byla filtrována za horka po 26 hodinách. Katalyzátor byl promyt a filtrát koncentrován při sníženém tlaku. Zbytek byl podroben chromatografii na silikagelu za eluce směsí hexanu a EtOAc (1:1). Vhodné frakce byly koncentrovány a triturovány směsí CH₂Cl₂ a hexanu za vzniku 20 mg (27 %) sloučeniny uvedené v názvu jako špinavě bílé pevné látky: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8,16 (d, 1H, J = 8,5 Hz), 7,71 (d, 2H, J = 6,7 Hz), 7,50 (s, 2H), 7,40 (t, 2H, J = 7,0 Hz), 7,30 (d, 1H, J = 6,5 Hz), 7,06-6,92 (m, 3H), 6,35 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 6,23 (s, 2H), 5,26 (s, 2H). Anal. výpočet pro C₂₁H₁₇N₃O · 0,15 CH₂Cl₂: C, 74,69, H, 5,13, N, 12,36. Změřeno: C, 74,64, H, 5,23, N, 12,25.

Příklad 8(a)

3-(E-styryl)-6-fenoxy-1H-indazol



Suspenze 200 mg (0,64 mmol) 3-(E-styryl)-6-fenoxy-4,5-dihydro-1H-indazolu a 200 mg 5% Pd/C v 10 ml tetralinu byla zahřívána v 155 °C po dobu 18 hodin. Katalyzátor byl odstraněn filtrací horkého roztoku a promyt TFA, EtOAc a MeOH. Filtrát byl koncentrován při sníženém tlaku a zbytek byl podroben chromatografii na silikagelu za eluce směsí hexanu a EtOAc

(2:1) za vzniku 110 mg (55 %) 3-(E-styryl)-6-fenoxy-1H-indazolu jako špinavě bílé pevné látky. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 6,96 (s, 2H), 7,10 (d, 2H, $J = 7,7$ Hz), 7,20 (t, 1H, $J = 7,1$ Hz), 7,30 (t, 1H, $J = 7,1$ Hz), 7,44 (m, 6H), 7,71 (d, 2H, $J = 7,5$ Hz), 8,20 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz), 12,90 (s, 1H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O} \cdot 0,1 \text{ H}_2\text{O}$: C, 80,28, H, 5,20, N, 8,92. Změřeno: C, 80,20, H, 5,21, N, 8,93.

Výchozí látka byla připravena takto:

(i) K míchanému roztoku 3,00 g (23,0 mmol) 3-chlorcyklohex-2-enonu a 2,16 g (23,0 mmol) fenolu v 25 ml acetonu bylo přidáno 3,81 g (27,6 mmol) práškového bezvodého K_2CO_3 . Po zahřívání k varu pod zpětným chladičem po dobu 18 hodin byla směs ochlazená a filtrována. Filtrát byl koncentrován při sníženém tlaku a podroben chromatografii na silikagelu za eluce směsí hexanu a EtOAc (4:1) za vzniku 3-fenoxycyklohex-2-enonu jako bílé pevné látky: ^1H NMR (CDCl_3) δ 2,10 (kvintet, 2H, $J = 6,3$ Hz), 2,40 (t, 2H, $J = 6,2$ Hz), 2,68 (t, 2H, $J = 6,3$ Hz), 5,14 (s, 1H), 7,05 (d, 2H, $J = 7,5$ Hz), 7,26 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz), 7,41 (t, 2H, $J = 7,6$ Hz).

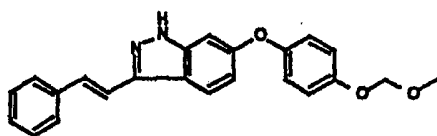
(ii) Roztok 301 mg (1,6 mmol) 3-fenoxycyklohex-2-enonu v 1 ml THF byl přidán k míchanému roztoku 1,0M roztoku lithiumbis(trimethylsilyl)amidu ve 3,2 ml THF v -78°C . Po 15 minutách bylo najednou přidáno 266 mg (1,6 mmol) cinnamoylchloridu. Po 15 minutách byla reakční směs nalita do 0,5N HCl a extrahována EtOAc (2 x). Spojené organické vrstvy byly promyty saturovaným roztokem NaCl, usušeny (MgSO_4) filtrovány a koncentrovány při sníženém tlaku. Chromatografie zbytku směsí hexanu a ethylacetátu 4:1 jako eluentu poskytla 220 mg (43 %) 3-fenoxy-6-(3-fenylakryloyl)cyklohex-2-enonu jako žluté pevné látky: ^1H NMR (CDCl_3) δ (enolová forma) 2,66 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz), 2,84 (t, 2H, $J = 7,1$ Hz), 5,11 (s, 1H), 6,86 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz), 7,02 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz), 7,20 (m,

2H), 7,28-7,38 (m, 3H). HRMS $M+H^+$ vypočteno 319,1334, změřeno 319,1340.

(iii) K míchanému roztoku 1,13 g (3,55 mmol) 3-fenoxy-6-(3-fenylakryloyl)cyklohex-2-enonu ve 20 ml směsi HOAc/EtOH (1:1) bylo přidáno 0,21 ml (4,3 mmol) monohydrátu hydrazinu. Reakce byla zahřívána v 70 °C po dobu 3 hodin, ochlazena a nalita opatrně do saturovaného roztoku NaHCO_3 a extrahována EtOAc (2 x). Spojené organické vrstvy byly promyty saturovaným roztokem NaCl, usušeny (MgSO_4) a koncentrovány při sníženém tlaku. Zbytek byl podroben chromatografii na silikagelu za eluce směsí hexanu a EtOAc (2:1) za vzniku 406 mg (36 %) 6-fenoxy-3-styryl-4,5-dihydro-1H-indazolu (3) jako špinavě bílé pevné látky: ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 2,64 (t, 2H, $J = 8,0$ Hz), 2,95 (t, 2H, $J = 8,0$ Hz), 5,46 (s, 1H), 7,04 (AB, 2H, $J = 16,8$ Hz), 7,15 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz), 7,25 (m, 2H), 7,42 (m, 4H), 7,55 (d, 2H, $J = 7,7$ Hz), 12,44 (s, 1H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O} \cdot 0,2 \text{ H}_2\text{O}$: C, 79,32, H, 5,83, N, 8,81. Změřeno: C, 79,36, H, 5,85, N, 8,84.

Příklad 8(b)

3-(E-styryl)-6-[4-(methoxymethoxy)fenoxy]-1H-indazol

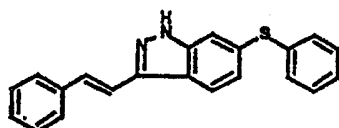


Sloučenina z příkladu 8(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 8(a) uvedeném výše, kromě toho, že 4-(methoxymethoxy)fenol byl použit namísto fenolu v kroku (i). ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 12,90 (s, 1 H), 8,17 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 7,71 (d, 2H, $J = 7,6$ Hz), 7,50 (s, 3H), 7,41 (t, 2H, $J = 7,6$ Hz), 7,31 (d, 1H, $J = 7,4$ Hz), 7,10 (s, 3H), 6,95 (dd, 1H, $J = 8,8, 1,9$ Hz), 6,84 (s, 1H), 5,20 (s, 2H),

3,42 (s, 3H). Anal. výpočet pro $C_{23}H_{20}N_2O_3$: C, 74,17, H, 5,41, N, 7,52. Změřeno: C, 74,21, H, 5,59, N, 7,46.

Příklad 8(c)

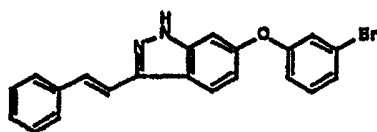
3-(E-styryl)-6-fenylsulfanyl-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 8(c) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 8(a) uvedeném výše, kromě toho, že thiofenol byl použit v kroku (i) namísto fenolu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 7,29 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,45–7,59 (m, 9H), 7,67 (s, 2H), 7,86 (d, 2H, $J = 7,2$ Hz), 8,35 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 13,30 (s, 1H). Anal. výpočet pro $C_{21}H_{16}N_2S \cdot 0,25 H_2O$: C, 75,76, H, 5,00, N, 8,41, S, 9,63. Změřeno: C, 75,79, H, 4,99, N, 8,16, S, 9,63.

Příklad 8(d)

6-(3-brom-fenoxy)-3-styryl-1H-indazol

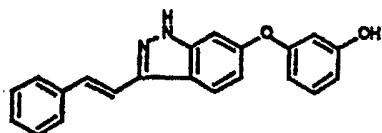


Sloučenina z příkladu 8(d) byla připravena analogickým způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 8(a) uvedeném výše, kromě toho, že 3-bromfenol byl použit v kroku (i) namísto fenolu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,08 (s, 1H), 8,23 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 7,72 (d, 2H, $J = 7,3$ Hz), 7,53 (s, 2H), 7,43–7,35 (m, 4H), 7,30 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz), 7,11 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz), 7,09 (s, 1H), 6,98 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz). Anal. výpočet pro

$C_{21}H_{15}BrN_2O$: C, 64,46, H, 3,86, Br, 20,42, N, 7,16. Změřeno: C, 64,31, H, 3,99, Br, 20,52, N, 7,11.

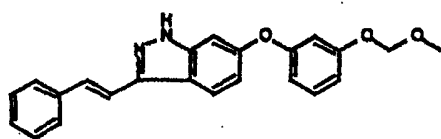
Příklad 9 (a)

3-(E-styryl)-6-[3-hydroxyfenoxy]-1H-indazol



K míchanému roztoku 50 mg (0,13 mmol) 3-(E-styryl)-6-[3-(methoxymethoxy)fenoxy]-1H-indazolu v 5 ml CH_2Cl_2 v $-25^\circ C$ bylo přidáno 75 μl (0,57 mmol) trimethylsilylbromidu. Po 1,5 hodině byl přidán saturovaný roztok $NaHCO_3$ a produkt byl extrahován EtOAc (2 x). Spojené organické vrstvy byly promyty saturovaným roztokem NaCl, usušeny ($MgSO_4$) a koncentrovány při sníženém tlaku. Zbytek byl podroben chromatografii na silikagelu za eluce směsí hexanu a EtOAc (1:1) za vzniku po trituraci směsí CH_2Cl_2 a hexanu 22 mg (50 %) 3-(E-styryl)-6-[3-hydroxyfenoxy]-1H-indazolu jako špinavě bílé pevné látky: ^1H NMR ($DMSO-d_6$) δ 6,37 (s, 1H), 6,43 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 6,50 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 6,88 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 6,92 (s, 1H), 7,12 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz), 7,24 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz), 7,31 (t, 2H, $J = 7,6$ Hz), 7,44 (s, 2H), 7,64 (d, 2H, $J = 7,5$ Hz), 8,12 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 9,54 (s, 1H), 12,92 (s, 1H). Anal. výpočet pro $C_{21}H_{16}N_2O_2 \cdot 0,3H_2O$: C, 75,57, H, 5,01, N, 8,39. Změřeno: C, 75,74, H, 5,11, N, 8,25.

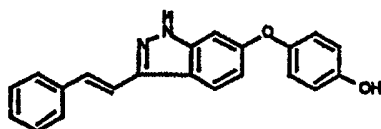
Výchozí látka, 3-(E-styryl)-6-[3-(methoxymethoxy)fenoxy]-1H-indazol, byla připravena, jak bylo popsáno v příkladu 8(b).



^1H NMR (CDCl_3) δ 3,42 (s, 3H), 5,10 (s, 2H), 6,64 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz), 6,72 (s, 1H), 6,80 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz), 6,98 (s, 1H), 7,00 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 7,19–7,38 (m, 5H), 7,53 (m, 3H), 7,92 (d, 1H, $J = 8,9$ Hz). Anal. výpočet pro $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$: $\text{M}+\text{H}^+$: 373,1552, změřeno 73,1546

Příklad 9(b)

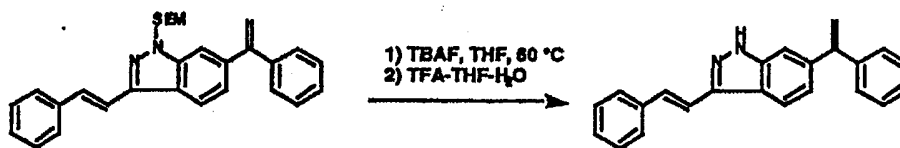
3-(E-styryl)-6-[4-hydroxyfenoxy]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 9(b) byla připravena jako v příkladu 9(a) uvedeném výše, kromě toho, že 3-(E-styryl)-6-[4-(methoxymethoxy)fenoxy]-1H-indazol byl použit namísto 3-(E-styryl)-6-[3-(methoxymethoxy)fenoxy]-1H-indazolu. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 12,95 (s, 1H), 9,58 (s, 1 H), 8,33 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz), 7,89 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz), 7,68 (s, 1H), 7,58 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz), 7,48 (d, 1H, $J = 7,3$ Hz), 7,24 (s, 1H), 7,13 (m, 3H), 6,99 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz). HRMS $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno: 329,1290. Změřeno: 329,1293. Anal. výpočet pro $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot 0,35\text{H}_2\text{O}$: C, 75,36, H, 5,03, N, 8,37. Změřeno: C, 75,35, H, 5,22, N, 8,24.

Příklad 10

6-(1-fenylvinyl)-3-styryl-1H-indazol

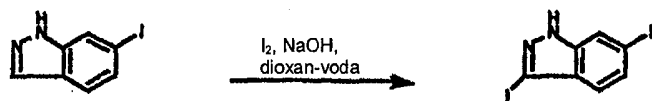


16,2 mg ((0,0358 mmol) 6-(1-fenylvinyl)-3-styryl-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu bylo rozpuštěno

v 0,6 ml THF a bylo podrobeno působení 0,6 ml 1M tetrabutylamoniumfluoridu (TBAF) v THF. Směs byla zahřívána na 60 °C v argonové atmosféře po dobu 4 hodin. Směs byla ochlazená, neutralizována nadbytkem saturovaného hydrouhličitanu sodného a organická látka byla extrahována ethylacetátem a koncentrována. Tato směs 3 sloučenin (vizualizace TLC) byla podrobena působení 4 ml směsi THF-voda-TFA (1:1:2) po dobu 30 minut. Směs byla naředěna 20 ml toluenu, koncentrována, neutralizována nadbytkem saturovaného hydrouhličitanu sodného a organická látka byla extrahována ethylacetátem. Organická látka byla usušena nad sulfátem sodným, dekantována a koncentrována. Purifikace chromatografií na silikagelu (2:8 směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 4,6 mg (40 %) 6-(1-fenylvinyl)-3-styryl-1H-indazolu: R_f sm 0,62, p 0,24 (směs ethylacetátu a hexanu 3:7), ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,99 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,60-7,25 (m, 14H), 5,58 (d, 1H, $J = 1,1$ Hz), 5,56 (d, 1H, $J = 1,1$ Hz), HRMS (FAB) $[\text{M}+\text{H}]^+/z$ vypočteno 323,1548, změřeno 323,1545.

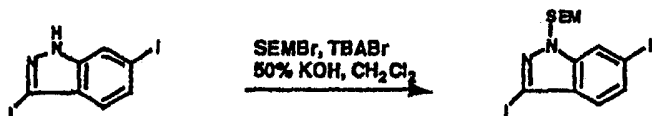
Výchozí látka byla připravena takto:

(i)



6-jodindazol byl konvertován na 3,6-dijodindazol (82 %) jak bylo popsáno v příkladu 1(a), krok (v): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 10,3 (š s, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,52 (dd, 1H, $J = 1,2, 8,5$ Hz), 7,24 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz).

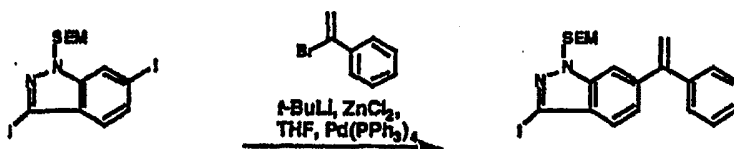
(ii)



755 mg (2,04 mmol) 3,6-dijodindazolu bylo přidáno k 2,5 g 50% KOH v 2,5 ml vody při teplotě 0 °C a byly přidány 4 ml

dichlormethanu. K této směsi bylo přidáno 6,6 mg (0,02 mmol, 0,01 ekv.) tetrabutylamoniumbromidu (TBABr) a po kapkách bylo přidáno 397 μ l (2,24 mmol, 1,10 ekv.) 2-(trimethylsilanyl)-ethoxymethylchloridu (SEM-Cl) po dobu 3 minut. Směs byla rychle míchána při teplotě 0 °C po dobu 1,5 hodiny. Bylo přidáno 20 ml vody a 20 ml dichlormethanu a organická látka byla oddělena, usušena nad sulfátem sodným a koncentrována. Chromatografie na silikagelu (5% ethylacetát v hexanu, 150 ml silikagelu) poskytla 2 isomerní sloučeniny (1-SEM, 763 mg, 75 % a 2-SEM, 105 mg, 10 %): R_f sm 0,08, p 0,34 a 0,27 (směs ethylacetátu a hexanu 1:9), ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,0 (s, 1H), 7,55 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,24 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 5,69 (s, 2H), 3,58 (t, 2H $J = 8,2$ Hz), 0,90 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), -0,1 (s, 9H).

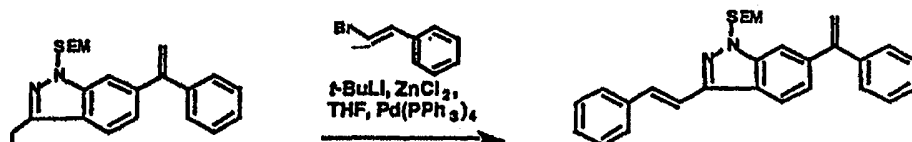
(iii)



26 μ l (0,20 mmol, 2,0 ekv.) 1-bromstyrenu bylo rozpuštěno v 0,75 ml THF, ochlazeno na -78 °C a bylo podrobno působení 235 μ l (0,40 mmol, 4,0 ekv.) 1,70M t-BuLi. Směs byla ponechána ohřát se na -42 °C po dobu 10 minut a byla přidána k 34 mg (0,25 mmol, 2,5 ekv.) čerstvě usušeného chloridu zinečnatého. Výsledný roztok byl ponechán ohřát se na 23 °C za míchání po dobu 25 minut. Tato směs byla přidána ke směsi 50 mg (0,10 mmol, 1 ekv.) čistého 3,6-dijod-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu a Pd(PPh₃)₄ 5 mg (0,004 mmol, 0,04 ekv.). Po 10 minutách bylo sledováním TLC zjištěno, že reakce byla ukončena a reakce byla zastavena saturovaným hydrouhličitanem sodným. Organická látka byla extrahována ethylacetátem,

usušena nad sulfátem sodným a koncentrována při sníženém tlaku. Chromatografie na silikagelu (5:95 směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 33,1 mg (70 %) 3-jod-6-(1-fenylvinyl)-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu: R_f sm 0,39, p 0,36 (směs ethylacetátu a hexanu 1:9), ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,50 (s, 1H), 7,42 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,33 (m, 5H), 7,22 (dd, 1H, $J = 1,2, 8,4$ Hz), 5,68 (s, 2H), 5,59 (d, 1H, $J = 1,0$ Hz), 5,57 (d, 1H, $J = 1,0$ Hz), 3,58 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), 0,88 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), -0,09 (s, 9H), HRMS (FAB) $[\text{M}+\text{H}]^+/z$ vypočteno 477,0859, změřeno 477,0866.

(iv)

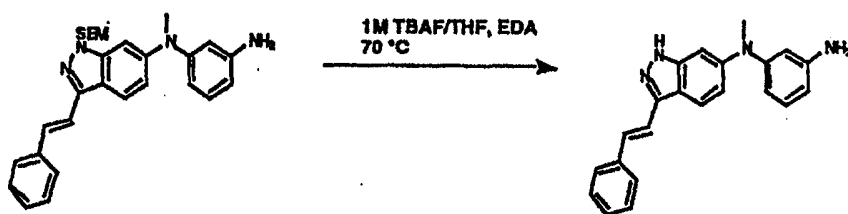


Příprava 6-(1-fenylvinyl)-3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu: 23 μl (0,174 mmol, 2,5 ekv.) E-2-bromostyrenu bylo rozpuštěno v 1,0 ml THF a bylo ochlazeno na -78 $^{\circ}\text{C}$. Bylo přidáno 205 μl (0,348 mmol, 5,00 ekv.) $t\text{-BuLi}$ a směs byla zahřáta na -42 $^{\circ}\text{C}$ po dobu 7 minut za vzniku sytě červené směsi. Roztok byl kanylou přidán ke 29 mg (0,209 mmol, 3,00 ekv.) čerstvě usušeného chloridu zinečnatého a směs byla ponechána ohřát se na 23 $^{\circ}\text{C}$ za míchání po dobu 20 minut. Tento roztok byl kanylou přidán k čisté směsi 33,1 mg (0,0696 mmol, 1,0 ekv.) 3-jod-6-(1-fenylvinyl)-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu a 4 mg (0,0035 mmol, 0,05 ekv.) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ ve 23 $^{\circ}\text{C}$. Tento roztok byl ponechán za míchání po dobu 15 minut a byl podroben působení saturovaného hydrouhličitanu sodného a extrahován ethylacetátem. Organická látka byla usušena nad sulfátem sodným, dekantována a koncentrována. Purifikace chromatografií na silikagelu

s použitím dvou kolon (5:95 směs ethylacetátu a hexanu, 12 ml silikagelu, a 1:99 směs ethylacetátu a benzenu, 12 ml silikagelu) poskytla 16,2 mg (51 %) 6-(1-fenylvinyl)-3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu: R_f sm 0,38, p 0,29 (směs ethylacetátu a hexanu 1:9), ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,98 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,62-7,22 (m, 14H), 5,71 (s, 2H), 5,57 (s, 2H), 3,60 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), 0,90 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), -,08 (s, 9H), HRMS (FAB) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 453,2362, změřeno 453,2354.

Příklad 11

N-methyl-N-(3-styryl-1H-indazol-6-yl)benzen-1,3-diamin

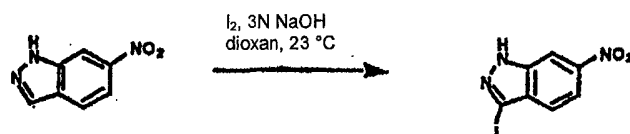


K 237 mg (0,5 mmol) N-methyl-N-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}benzen-1,3-diaminu bylo přidáno 10,1 ml (10,1 mmol) 1M TBAF v THF, pak následovalo 0,34 ml (5,04 mmol) 10 ekv.) ethylendiaminu. Výsledná směs byla zahřívána na 70 °C po dobu 5 hodin. Reakce pak byla zastavena 10 ml saturovaného NaHCO_3 a extrahována 3 x 35 ml EtOAc. Sloučené EtOAc fáze byly promyty 5 x 20 ml H_2O , pak 20 ml solanky, usušeny nad Na_2SO_4 , dekantovány a koncentrovány při sníženém tlaku do pěny. Surová látka byla purifikována chromatografií na silikagelu (9:1 směs dichlormethanu a ethylacetátu) za vzniku 120 mg (70% výtěžek) N-methyl-N-(3-styryl-1H-indazol-6-yl)benzen-1,3-diaminu jako pěny. R_f sm 0,73, R_f p 0,27 (směs dichlormethanu a ethylacetátu 7:3), ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 150,3, 148,8, 147,5, 147,5, 143,9, 143,4, 137,5, 131,1, 130,3, 129,3, 128,9, 128,2, 127,9, 126,7, 121,0,

120,5, 117,0, 116,0, 112,6, 109,8, 109,0, 98,3, 40,7, LCMS (ESI) $[M+H]^+/z$ vypočteno 341, změřeno 341. Anal. výpočet: C, 77,62, H, 5,92, N, 16,46. Změřeno: C, 76,16, H, 5,88, N, 15,95.

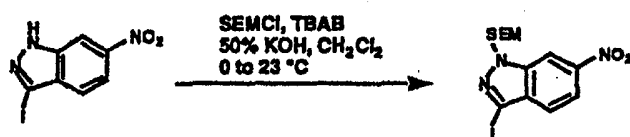
Výchozí látka byla připravena takto:

(i)



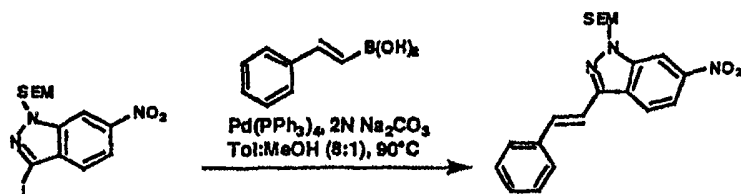
6-nitro-1H-indazol byl konvertován na 50,6 g (87 %) 3-jod-6-nitro-1H-indazol, jak bylo popsáno v příkladu 1(a), krok (v): FTIR (KBr) 3376, 3076, 2964, 2120, 1739, 1626, 1526, 1439, 1294, 1128, 954 cm^{-1} , ^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,28 (s, 1H), 8,05 (s, 1H), 7,66 (d, 1H, $J = 8,13$ Hz), 7,45 (dd, 1H, $J = 8,33, 1,38$ Hz), 7,17 (d, 1H, $J = 1,01$ Hz), 7,14 (s, 1H), 7,03 (d, 1H, $J = 8,04$ Hz), 6,89 (s, 2H), 3,82 (s, 3H), 2,55 (s, 6H), 2,21 (s, 3H), 1,32 (s, 9H). MS (FAB) $[M+H]^+/z$ vypočteno 311, změřeno 311. Anal. výpočet: C, 69,66, H, 5,85, N, 9,03. Změřeno: C, 69,41, H, 5,98, N, 8,79.

(ii)



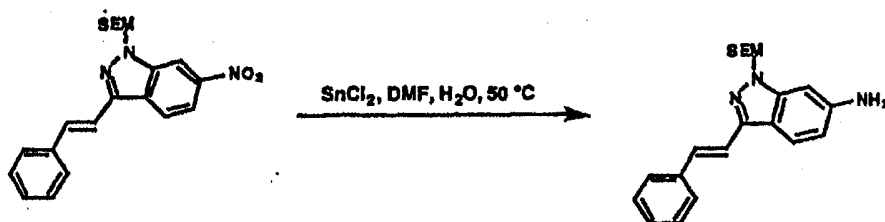
3-jod-6-nitro-1H-indazol byl konvertován na 10,2 g (81% výtěžek) 6-nitro-3-jod-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol, jak bylo popsáno v příkladu 10, krok (ii): t_t 58 °C. Anal. výpočet: C, 37,24, H, 4,33, N, 10,02. Změřeno: C, 37,21, H, 4,38, N, 10,00.

(iii)



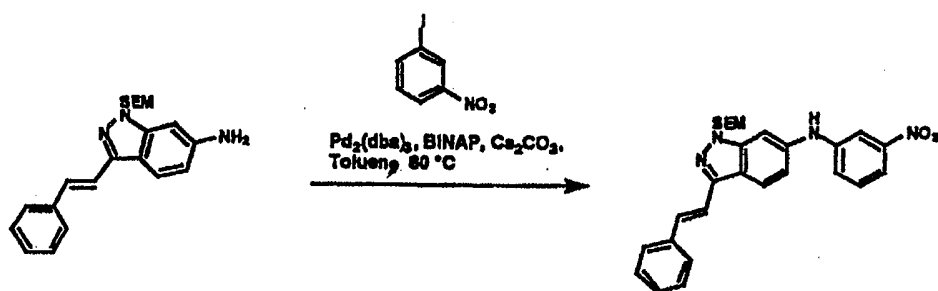
Ke směsi 11,0 g (26,1 mmol) 6-nitro-3-jod-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu, 4,64 g (31,4 mmol) styrylboronové kyseliny a 1,25 g (1,08 mmol) $\text{Pd(PPh}_3)_4$ v argonové atmosféře bylo přidáno 192 ml toluenu, 4 ml MeOH a 32,6 ml (65,3 mmol) 2N vodného NaOH. Výsledná heterogenní směs byla zahřívána na 90 °C. Po 8 hodinách byla reakce naředěna 150 ml EtOAc a 50 ml vody, fáze byly odděleny a organická fáze byla extrahována 2 x 50 ml EtOAc. Sloučené organické fáze byly promyty 50 ml solanky, pak usušeny nad Na_2SO_4 , filtrovány a koncentrovány při sníženém tlaku. Surová reakční směs byla purifikována chromatografií na silikagelu (1:9 směs EtOAc a hexanu) za vzniku 7,65 g (74 %) 6-nitro-3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu jako žluté pevné látky: ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 148,3, 145,0, 141,3, 138,1, 134,2, 130,5, 129,9, 129,8, 129,5, 128,1, 127,4, 123,2, 119,8, 117,8, 108,2, 79,7, 68,5, 19,2, 0,0, MS (FAB) $[\text{M}+\text{Na}]/z$ vypočteno 418, změřeno 418. Anal. výpočet: C, 63,77, H, 6,37, N, 10,62. Změřeno: C, 64,04, H, 6,29, N, 10,56.

(iv)



8,1 g (20,5 mmol) 6-nitro-3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu bylo rozpuštěno v 75 ml DMF ve 23 °C v argonové atmosféře. Bylo přidáno 12,9 g (67,7 mmol) SnCl_2 , pak následovalo 1,7 ml (92,2 mmol) vody a výsledná směs byla zahřívána na 50 °C. Po 4 hodinách bylo přidáno 45 ml (135 mmol) 3N NaOH následováno 100 ml EtOAc. Výsledná emulze byla filtrována za horka přes celit a lože celitu bylo promyto za horka 3 x 100 ml EtOAc. Filtrát byl koncentrován při sníženém tlaku, zbytek byl rozpuštěn v EtOAc, promyt solankou, usušen nad Na_2SO_4 , filtrován a koncentrován při sníženém tlaku za vzniku pevné látky. Surová látka byla purifikována chromatografií na silikagelu (2:8 až 7:3 směs ethylacetátu a hexanu) za vzniku 5,1 g (68% výtěžek) 3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-ylaminu jako žluté pevné látky. MS (FAB) $[\text{M}+\text{H}]^+/z$ vypočteno 366, změřeno 366.

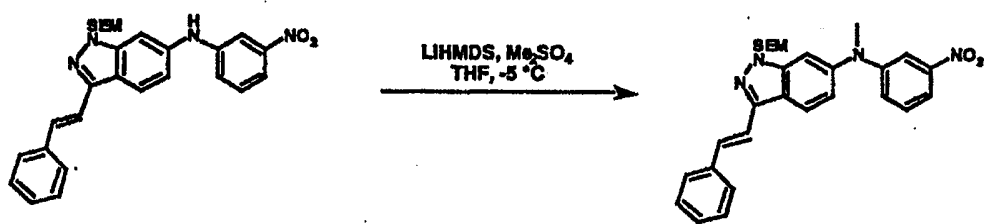
(v)



Ke směsi 1,1 g (3 mmol) 3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-ylaminu, 0,9 g (3,6 mmol) m-nitroiodbenzenu, 0,07 g (0,133 mmol) BINAP, 34 mg (0,0375 mmol) $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ a 1,37 g (4,2 mmol) Cs_2CO_3 v argonové atmosféře bylo přidáno 6 ml toluenu. Výsledná heterogenní směs byla zahřívána na 80 °C. Po 46 hodinách byla reakce ochlazená na 23 °C, naředěna 20 ml ethylacetátu (EtOAc) a filtrována. Bylo přidáno 5 ml vody, fáze byly odděleny a organická fáze byla

extrahována 2 x 50 ml EtOAc. Sloučené organické látky byly promyty solankou, pak usušeny nad Na_2SO_4 , filtrovány a koncentrovány při sníženém tlaku. Surová reakční směs byla purifikována chromatografií na silikagelu (za eluce 9:1 směsí hexanu a EtOAc) za vzniku 7,65 g (74 %) (3-nitrofenyl)-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}aminu jako žluté pevné látky: TLC (směs hexanu a EtOAc 7:3) R_f sm 0,16, R_f p 0,30 (směs ethylacetátu a hexanu 3:7), FTIR (KBr) 3391, 3059, 2952, 2894, 1614, 1530, 1483, 1346, 1248, 1076, 836, 734 cm^{-1} , ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,86 (s, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,65 (dt, 1H, $J = 2,21, 5,13$ Hz), 7,15-7,41 (m, 5H), 6,93 (dd, 1H, $J = 1,87, 8,67$ Hz), 5,56 (s, 2H), 3,51 (t, 2H, $J = 8,17$ Hz), 0,81 (t, 2H, $J = 7,96$ Hz), -0,15 (s, 9H), ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 149,6, 144,8, 143,5, 142,4, 140,9, 137,3, 131,8, 130,3, 129,0, 128,2, 126,7, 122,8, 122,6, 120,1, 119,3, 116,1, 115,6, 111,4, 98,5, 77,9, 66,7, 18,0, -1,2, MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 487, změřeno 487. Anal. výpočet: C, 66,64, H, 6,21, N, 11,51. Změřeno: C, 66,91, H, 6,21, N, 11,44.

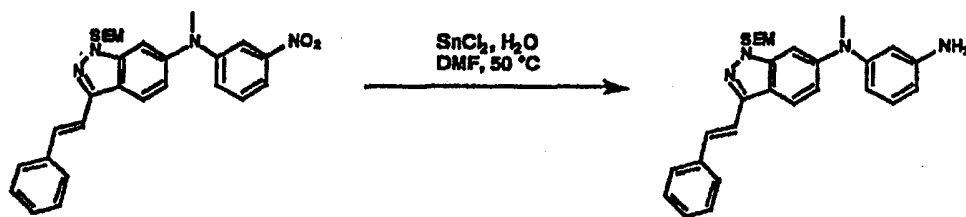
(vi)



K 434 mg (0,89 mmol) (3-nitrofenyl)-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}aminu v 5 ml THF ochlazeného na -5°C v argonové atmosféře, bylo přidáno 0,42 ml (4,5 mmol) dimethylsulfátu, následováno 1,8 ml (1,8 mmol) LiHMDS (1M v THF). Po 20 minutách byla reakce zastavena 2 ml saturovaného vodného NH_4Cl , pak extrahována 3 x 20 ml EtOAc. Sloučené organické látky byly promyty 10 ml solanky,

usušeny nad Na_2SO_4 , dekantovány a koncentrovány při sníženém tlaku. Purifikace chromatografií na silikagelu (za eluce směsí hexanu a EtOAc 9:1) poskytla 367 mg (82 %) methyl-(3-nitrofenyl)-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}aminu jako oleje: TLC (směs hexanu a EtOAc 7:3) R_f sm 0,29, R_f p 0,39 (ethylacetát: hexan 3:7), FTIR (KBr) 2951, 2894, 1611, 1528, 1485, 1348, 1248, 1077 cm^{-1} , ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,99 (d, 1H, $J = 8,67$ Hz) 7,77 (t, 1H, $J = 2,25$ Hz), 7,72 (dd, 1H, $J = 0,79, 2,09$ Hz), 7,60, (d, 2H, $J = 7,22$ Hz), 7,26-7,54 (m, 7H), 7,19 (dd, 1H, $J = 0,78, 2,41$ Hz) 7,07 (dd, 1H, $J = 1,85, 8,69$ Hz), 5,70 (s, 2H), 3,63 (t, 2H, $J = 8,10$ Hz), 3,48 (s, 3H), 0,92 (t, 2H, $J = 8,10$ Hz), -0,04 (s, 9H), ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 150,2, 149,6, 147,1, 143,5, 142,5, 137,3, 131,9, 129,8, 129,0, 128,2, 126,8, 123,1, 122,6, 120,2, 120,0, 119,7, 114,4, 111,4, 104,5, 78,0, 66,8, 41,1, 18,0, -1,2, LCMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 501, změřeno 510.

(vii)

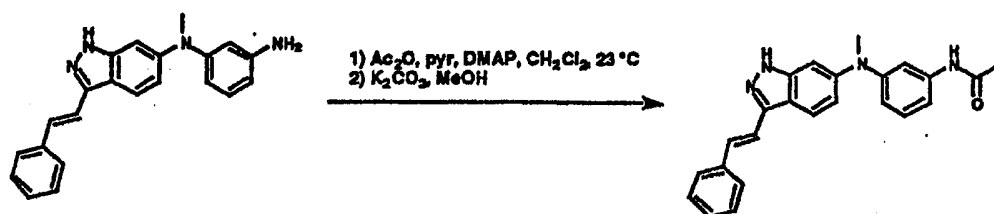


Methyl-(3-nitrofenyl)-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}amin byl konvertován na N-methyl-N-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}benzen-1,3-diamin, jak bylo popsáno v příkladu 11, krok (iv). R_f sm 0,55, R_f p 0,31 (směs ethylacetátu a hexanu 3:7), FTIR (tenký film) 3455, 3360, 2951, 2893, 1621, 1601, 1494, 1449, 1249, 1074 cm^{-1} , ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,81 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 7,58 (d, 2H, $J = 7,21$ Hz), 7,26-7,50 (m, 5H), 7,12 (t, 1H, $J = 7,93$ Hz), 7,01 (d, 1H, $J = 1,73$ Hz),

6,95 (dd, 1H, $J = 1,99, 8,85$ Hz), 5,67 (s, 2H), 3,63 (t, 2H, $J = 8,12$ Hz), 3,38 (s, 3H), 0,93 (t, 2H, $J = 8,13$ Hz), -0,04 (s, 9H), ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 150,3, 149,0, 147,7, 143,4, 143,0, 137,6, 131,3, 130,4, 128,9, 128,0, 126,7, 121,2, 120,6, 117,3, 117,0, 113,1, 110,1, 109,3, 97,5, 77,8, 66,6, 41,0, 18,0, -1,2, LCMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 471, změřeno 471.

Příklad 12(a)

N-{3-[methyl-(3-styryl-1H-indazol-6-yl)amino]fenyl}acetamid



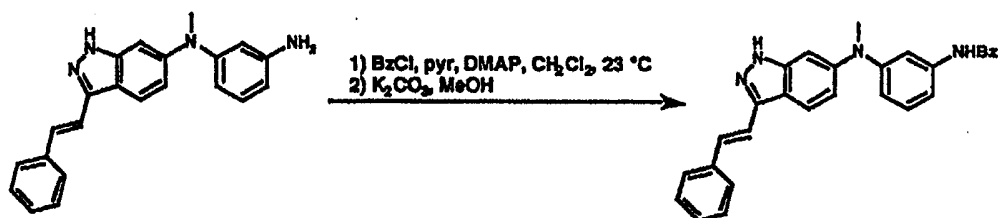
34 mg (0,041 mmol) N-methyl-N-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}benzen-1,3-diaminu, připraveného v příkladu 11, bylo suspendováno v 0,5 ml CH_2Cl_2 ve 23 °C v argonové atmosféře. Bylo přidáno 81 μl (1,0 mmol) pyridinu, 94 μl (1,0 mmol) Ac_2O a katalytické množství DMAP. Reakce se okamžitě stala homogenní. Po 1 hodině analýza TLC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{EtOAc}$ 4:1) neprokázala žádnou výchozí látku. Reakce byla zastavena 2 ml vodného saturevaného NaHCO_3 , pak byla naředěna 15 ml EtOAc a organické fáze byly promyty 3 ml solanky, dekantovány a koncentrovány při sníženém tlaku na olej. Olej byl suspendován ve 2 ml MeOH a bylo přidáno 83 mg (0,6 mmol) K_2CO_3 . Výsledná směs byla míchána ve 23 °C v argonové atmosféře. Po 1 hodině byla reakce naředěna 15 ml EtOAc a organické fáze byly promyty 3 ml solanky, dekantovány a koncentrovány při sníženém tlaku. Surová látka byla purifikována semipreparativní HPLC za vzniku 8,4 mg (22 %) N-{3-[methyl-(3-styryl-1H-indazol-6-yl)amino]fenyl}acetamidu.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,86 (d, 1H, $J = 8,68$ Hz), 7,58 (d,

1H, $J = 7,17$ Hz), 7,16–7,45 (m, 7H), 7,15 (d, 1H, $J = 8,29$ Hz), 6,98 (m, 1H), 6,95 (d, 1H, $J = 1,92$ Hz), 6,8 (dd, 1H, $J = 1,16, 8,05$ Hz), 3,37 (s, 3H), 2,14 (s, 3H). LCMS (ESI) $[M+H]^+/z$ vypočteno 383, změřeno 383. Anal. výpočet: C, 75,37, H, 5,80, N, 14,65. Změřeno: C, 73,53, H, 6,01, N, 13,73.

Příklad 12(b)

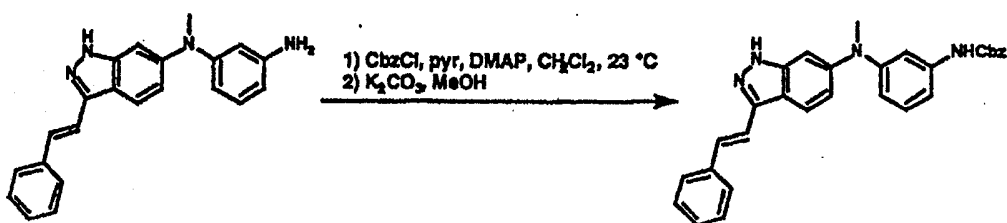
N-{3-[methyl-(3-styryl-1H-indazol-6-yl)amino]fenyl}benzamid



Sloučenina z příkladu 12(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 12(a) uvedeném výše, kromě toho, že benzoylchlorid byl použit namísto acetanhydridu. LCMS (ESI) $[M+H]^+/z$ vypočteno 475, změřeno 475. Anal. výpočet: C (78,36), H (5,44), N (12,60). Změřeno: C (76,57), H (5,50), N (12,12).

Příklad 12(c)

Benzylester {3-[methyl-(3-styryl-1H-indazol-6-yl)amino]fenyl}-karbamové kyseliny

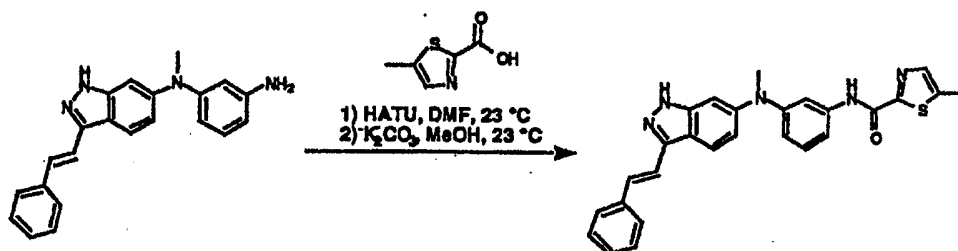


Sloučenina z příkladu 12(c) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 12(a) uvedeném výše, kromě toho, že karbobenzyloxychlorid byl použit namísto

acetanhydridu. R_f sm 0,30, R_f p 0,57 (CH_2Cl_2 :EtOAc 8:2), LCMS (ESI+) $[M+H]^+/z$ vypočteno 475 změřeno 475, Anal. výpočet: C (75,93), H (5,52), N (11,81), změřeno, C (75,60), H (5,96), N (10,75).

Příklad 12(d)

{3-[methyl-(3-styryl-1H-indazol-6-yl)amino]fenyl}amid
5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny

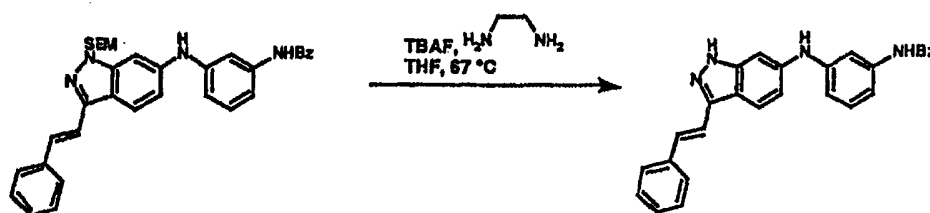


K roztoku 26 mg (0,075 mmol) N-methyl-N-(3-styryl-1H-indazol-6-yl)benzen-1,3-diaminu, připraveného v příkladu 11, a 64 mg (0,45 mmol) 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny v 0,375 ml DMF ve 23 °C v argonové atmosféře bylo přidáno 171 mg (0,45 mmol) HATU. Po 1 hodině analýza TLC (CH_2Cl_2 :EtOAc 8:2) neprokázala výchozí látku. Reakce byla zastavena 2 ml saturovaného vodného NaHCO_3 , pak byla naředěna 15 ml EtOAc a organické fáze byly promyty 3 ml solanky, dekantovány a koncentrovány při sníženém tlaku. Olej byl suspendován ve 2 ml MeOH a bylo přidáno 62 mg (0,45 mmol) K_2CO_3 . Výsledná směs byla míchána ve 23 °C v argonové atmosféře. Po 1 hodině analýza TLC (CH_2Cl_2 :EtOAc 8:2) neprokázala výchozí látku. Reakce byla naředěna 15 ml EtOAc a organické fáze byly promyty 3 ml solanky, dekantovány a koncentrovány při sníženém tlaku na pevnou látku. Surová látka byla purifikována chromatografií na silikagelu (za eluce směsí CH_2Cl_2 :EtOAc 85:15) za vzniku 9,9 mg (28 %) sloučeniny uvedené v názvu po purifikaci semipreparativní HPLC. R_f sm 0,25, R_f p 0,39 (směs hexanu a

EtOAc 8:2), LCMS (ESI+) $[M+H]^+/z$ vypočteno 466, změřeno 466.
 Anal. výpočet: C (69,65), H (4,98), N (15,04), S (6,89).
 Změřeno: C (69,24), H (5,35), N (13,97), S (5,95).

Příklad 13

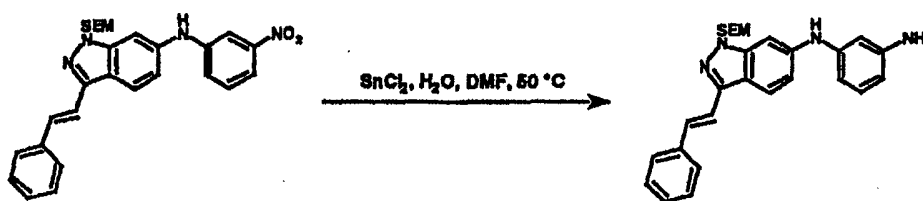
N-[3-(3-styryl-1H-indazol-6-ylamino)fenyl]benzamid



N-(3-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-ylamino}fenyl)benzamid byl konvertován na N-[3-(3-styryl-1H-indazol-6-ylamino)fenyl]benzamid, jak bylo popsáno v příkladu 11. LCMS (ESI) $[M+H]^+/z$ vypočteno 431, změřeno 431.
 Anal. výpočet: C, 78,12, H, 5,15, N, 13,01. Změřeno: C, 77,06, H, 6,91, N, 9,88.

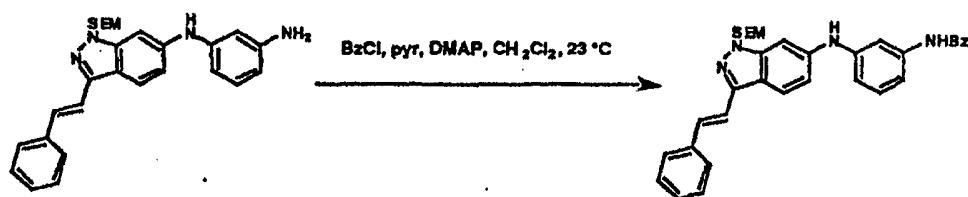
Výchozí látka byla připravena takto:

(i)



(3-nitrofenyl)-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}amin, připravený v příkladu 11, krok (vi), byl konvertován na N-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}benzen-1,3-diamin, jak bylo popsáno v příkladu 11, krok (iv). LCMS (ESI) $[M+H]^+/z$ vypočteno 457, změřeno 457.

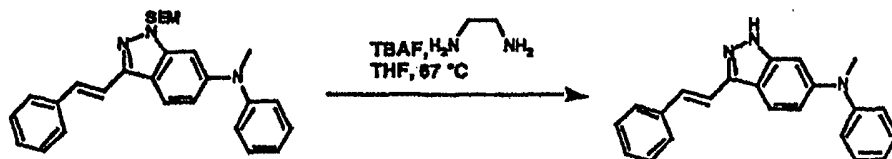
(ii)



K roztoku 91 mg (0,2 mmol) N-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}benzen-1,3-diaminu a 0,081 ml (1,0 mmol) pyridinu v 0,5 ml CH₂Cl₂ ochlazenému na -5 °C v argonové atmosféře bylo přidáno 0,028 ml (0,24 mmol) benzoylchloridu. Po 0,5 hodině byla reakce zastavena saturovaným vodným NaHCO₃, pak extrahována 2 x 5 ml CH₂Cl₂. Sloučené organické látky byly promyty 5 ml solanky, usušeny nad Na₂SO₄, dekantovány a koncentrovány při sníženém tlaku za vzniku oleje. Surová látka byla purifikována chromatografií na silikagelu (za eluce směsí hexanu a EtOAc 3:2) za vzniku 108 mg (96% výtěžek) N-(3-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-ylamino}fenyl)benzamidu. R_f sm 0,35, R_f p 0,44 (směs ethylacetátu a hexanu 1:1), FTIR (tenký film) 3320, 2951, 2893, 1657, 1604, 1537, 1493, 1409, 1303, 1248, 1074 cm⁻¹, LCMS (ESI) [M+H]/z vypočteno 561, změřeno 561. Anal. výpočet: C, 72,82, H, 6,47, N, 9,99. Změřeno: C, 72,33, H, 6,39, N, 9,81.

Příklad 14

Methylfenyl-(3-styryl-1H-indazol-6-yl)amin

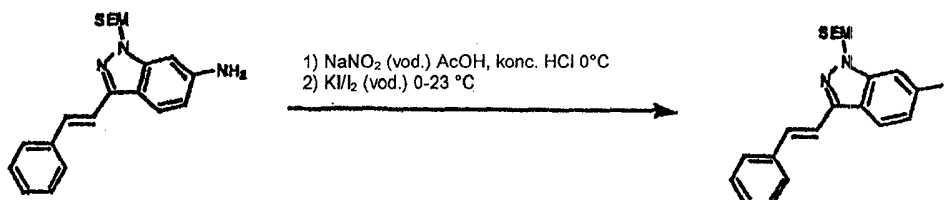


Methylfenyl-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}amin byl konvertován na methylfenyl-

(3-styryl-1H-indazol-6-yl)amin, jak bylo popsáno v příkladu 11. MS (ESI) $[M+H]^+/z$ vypočteno 326, změřeno 326.

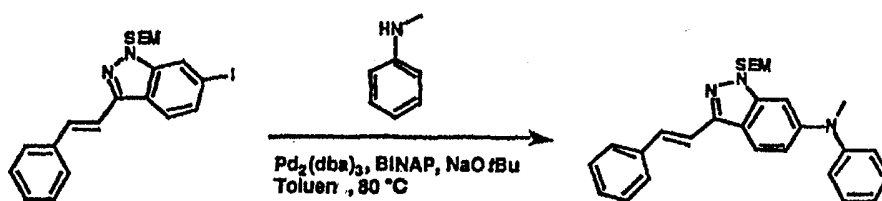
Výchozí látka byla připravena takto:

(i)



K roztoku 1,58 g (4 mmol) 3-styryl-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-ylaminu ve 14 ml AcOH, 3 ml vody a 1,67 ml koncentrované HCl ochlazenému na 2 °C bylo přidáno 304 mg (4,4 mmol) roztoku NaNO₂ v 0,5 ml vody po dobu 5 minut. Výsledný tmavě červený roztok byl míchán ve 2 °C po dobu 0,5 hodiny, pak bylo přidáno 797 mg (4,8 mmol) roztoku KI a 610 mg (2,4 mmol) I₂ v 1 ml vody po kapkách tak, aby se udržela vnitřní teplota pod 5 °C. Po 2 hodinách ve 2 °C byla reakce ponechána za míchání ve 23 °C po dobu 17 hodin. Reakce byla zastavena 3N vodným NaOH, naředěna 50 ml EtOAc a 15 ml H₂O, fáze byly odděleny a vodná fáze byla extrahována 2 x 15 ml EtOAc. Sloučené organické fáze byly promyty 3 x 20 ml 5% NaHSO₃, 15 ml solanky, usušeny nad Na₂SO₄, dekantovány a koncentrovány při sníženém tlaku. Surová reakční směs byla purifikována chromatografií na silikagelu (za eluce 1:1 směsí hexanu a EtOAc) za vzniku 1,3 g (68% výtěžek) 6-jod-3-styryl-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu jako bílé pevné látky. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,03 (s, 1H), 7,79 (d, 1H, J = 9,0 Hz), 7,30-7,60 (m, 8H), 5,73 (s, 2H), 3,63 (t, 2H, J = 6,0 Hz), 0,96 (t, 2H, J = 6,0 Hz), 0,0 (s, 9), ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 143,6, 142,4, 137,2, 132,1, 130,8, 129,0, 128,3, 126,8, 122,5, 122,4, 119,6, 119,5, 92,9, 78,1, 66,9, 18,0, -1,2. Anal. výpočet: C, 52,94, H, 5,29, N, 5,88. Změřeno: C, 52,66, H, 5,29, N, 5,74.

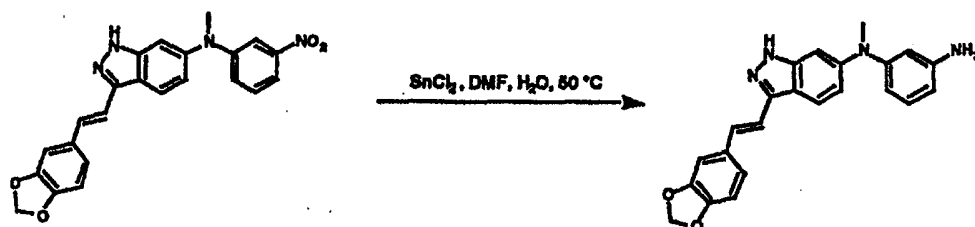
(ii)



6-jod-3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol byl konvertován na methylfenyl-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}amin, jak bylo popsáno v příkladu 11, krok (v). R_f sm 0,35 R_f p 0,13 (směs EtOAc a hexanu 1:9), IR (KBr) 3031, 2951, 1625, 1595, 1498, 1449, 1326, 1303, 1248, 1212, 1076, 835, 694 cm^{-1} , MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 456, změřeno 456.

Příklad 15

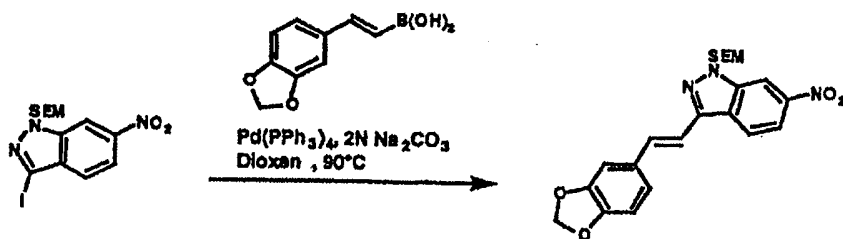
N-[3-(2-benzo[1,3]dioxol-5-ylvinyl)-1H-indazol-6-yl]-N-methylbenzen-1,3-diamin



[3-(2-benzo[1,3]dioxol-5-ylvinyl)-1H-indazol-6-yl]methyl-(3-nitrofenyl)amin byl konvertován na N-[3-(2-benzo[1,3]dioxol-5-ylvinyl)-1H-indazol-6-yl]-N-methylbenzen-1,3-diamin, jak bylo popsáno v příkladu 11, krok (iv). LCMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 385, změřeno 385. Anal. výpočet: C, 71,86, H, 5,24, N, 14,57. Změřeno: C, 70,99, H, 5,60, N, 13,80.

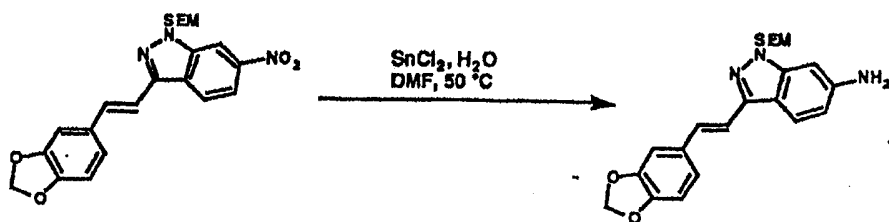
Výchozí látka byla připravena takto:

(i)



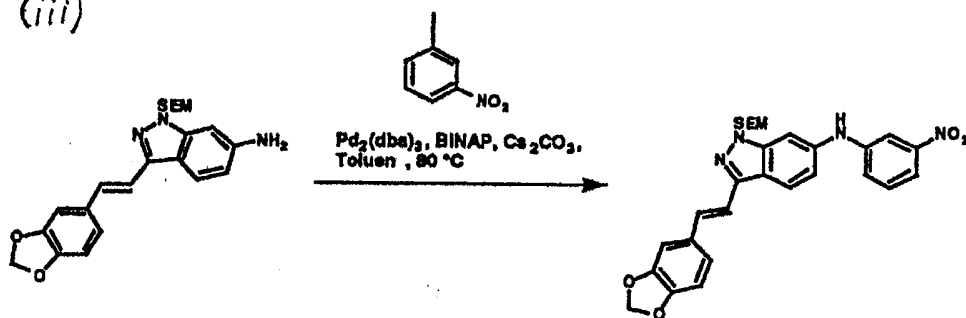
Ke směsi 4,2 g (10 mmol) 6-nitro-3-jod-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu, 3,46 g (15 mmol) boronové kyseliny a 0,58 g (0,5 mmol) $\text{Pd(PPh}_3)_4$ ve 23°C v argonové atmosféře bylo přidáno 38 ml 1,4-dioxanu a 12,5 ml (25 mmol) 2N vodného NaOH. Výsledná směs byla zahřívána na 90°C . Po 2 hodinách byla reakce naředěna 100 ml EtOAc a 70 ml vody, fáze byly odděleny a organická fáze byla extrahována 2 x 100 ml EtOAc. Sloučené organické fáze byly promyty 20 ml solanky, a pak usušeny nad Na_2SO_4 , filtrovány a koncentrovány při sníženém tlaku. Surová směs byla purifikována chromatografií na silikagelu (za eluce 9:1 směsí hexanu a EtOAc) za vzniku 4,15 g (94% výtěžek) 3-(2-benzo[1,3]dioxol-5-ylvinyl)-6-nitro-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu jako žluté pevné látky. FTIR (tenký film) 2950, 2898, 1523, 1501, 1483, 1446, 1344, 1249, 1080, 1043, 927 cm^{-1} , ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,56 (dd, 1H, $J = 0,68, 1,75$ Hz), 8,14 (d, 1H, $J = 1,78$ Hz), 8,13 (d, 1H, $J = 0,67$ Hz), 7,50 (d, 1H, 16,53 Hz), 7,25 (d, 1H, 16,52 Hz), 7,18 (d, 1H, $J = 1,67$ Hz), 7,07 (dd, 1H, $J = 1,65, 8,13$ Hz), 6,88 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 6,05 (s, 2H), 5,84 (s, 2H), 3,66 (t, 2H, $J = 7,33$ Hz), 0,97 (t, 2H, $J = 7,24$ Hz), 0,0 (s, 9H), ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 148,5, 148,2, 147,0, 143,9, 140,1, 132,7, 131,3, 126,1, 122,3, 121,9, 116,7, 116,5, 108,7, 106,9, 105,7, 101,5, 78,4, 67,2, 17,9, -1,3, LCMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 531, změřeno 531.

(ii)



3-(2-benzo[1,3]dioxol-5-ylvinyl)-6-nitro-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazol byl konvertován na 3-(2-benzo[1,3]dioxol-5-ylvinyl)-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-ylamin, jak bylo popsáno v příkladu 11, krok (iv). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,73 (d, 1H, $J = 8,56$ Hz), 7,52 (d, 1H, $J = 16,57$ Hz), 7,18 (d, 1H, $J = 16,56$ Hz), 7,10 (d, 1H, $J = 1,49$ Hz), 6,98 (dd, 1H, $J = 1,52, 8,06$ Hz), 6,80 (d, 1H, $J = 8,01$ Hz), 6,68 (d, 1H, $J = 1,44$ Hz), 6,63 (dd, 1H, $J = 1,86, 8,57$ Hz), 5,95 (s, 2H), 5,59 (s, 2H), 3,59 (t, 2H, $J = 8,17$ Hz), 0,91 (t, 2H, $J = 8,33$ Hz), 0,04 (s, 9H), ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 148,3, 147,6, 146,4, 143,4, 143,0, 132,0, 130,8, 122,0, 121,7, 118,8, 116,5, 113,1, 108,5, 105,5, 101,3, 92,9, 77,6, 66,3, 17,9, -1,3, LCMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 410, změřeno 410.

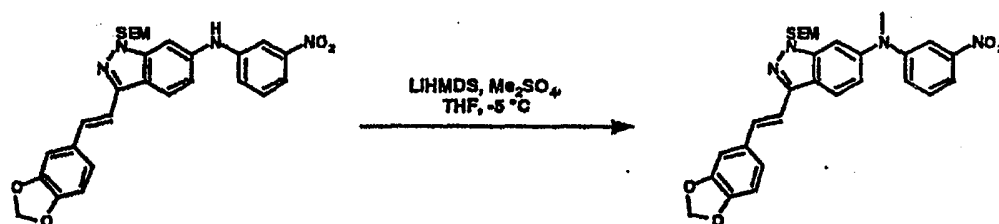
(iii)



3-(2-benzo[1,3]dioxol-5-ylvinyl)-1-(2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl)-1H-indazol-6-ylamin byl konvertován na 3-(2-benzo[1,3]dioxol-5-ylvinyl)-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl-(3-nitrofenyl)amin, jak bylo popsáno v příkladu 11, krok (v). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 150,8, 149,7,

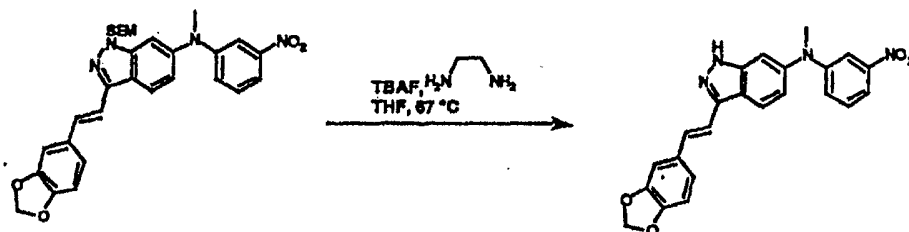
149,1, 146,0, 144,8, 143,6, 142,1, 133,1, 132,7, 131,6, 124,0, 123,8, 123,1, 120,4, 119,5, 117,2, 116,8, 112,6, 109,9, 106,9, 102,6, 99,7, 79,1, 67,9, 19,2, 0,0, MS (FAB) $[M+H]^+/z$ vypočteno 531, změřeno 531. Anal. výpočet: C, 63,38, H, 5,70, N, 10,56. Změřeno: C, 63,49, H, 5,76, N, 10,42.

(iv)



{3-(2-benzo[1,3]dioxol-5-ylvinyl)-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}-(3-nitrofenyl)amin byl konvertován na {3-(2-benzo[1,3]dioxol-5-ylvinyl)-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}methyl-(3-nitrofenyl)amin, jak bylo popsáno v příkladu 11, krok (vi). FTIR (KBr) 2952, 2894, 1612, 1529, 1503, 1489, 1446, 1407, 1348, 1306, 1251, 1077, 1039 cm⁻¹, ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 150,1, 149,5, 148,4, 147,8, 147,0, 143,5, 142,4, 131,8, 131,5, 129,8, 123,0, 122,49, 121,9, 120,1, 119,5, 118,2, 114,3, 11,3, 108,7, 105,7, 104,5, 101,4, 78,0, 66,8, 41,0, 17,9, -1,2, MS (FAB) $[M+H]^+/z$ vypočteno 545, změřeno 545. Anal. výpočet: C, 63,95, H, 5,92, N, 10,29. Změřeno: C, 62,63, H, 5,72, N, 9,62.

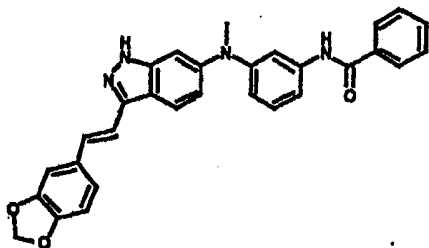
(v)



{3-(2-benzo[1,3]dioxol-5-ylvinyl)-1-[2-(trimethylsilanyl)-ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl)methyl-(3-nitrofenyl)amin byl konvertován na [3-(2-benzo[1,3]dioxol-5-ylvinyl)-1H-indazol-6-yl)methyl-(3-nitrofenyl)amin, jak bylo popsáno v příkladu 11. LCMS (ESI) [M+H]/z vypočteno 415, změřeno 415. Anal. výpočet: C, 66,66, H, 4,38, N, 13,52. Změřeno: C, 66,56, H, 4,48, N, 13,35.

Příklad 16(a)

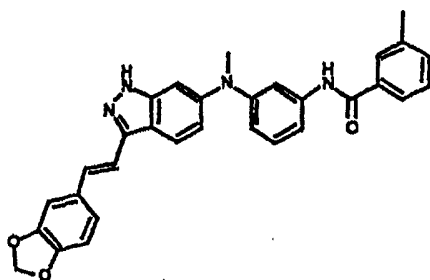
N-(3-{[3-(2-benzo[1,3]dioxol-5-ylvinyl)-1H-indazol-6-yl]-methylamino}fenyl)benzamid



N-[3-(2-benzo[1,3]dioxol-5-ylvinyl)-1H-indazol-6-yl]-N-methylbenzen-1,3-diamin (připravený, jak bylo popsáno v příkladu 15) byl konvertován na N-(3-{[3-(2-benzo[1,3]dioxol-5-ylvinyl)-1H-indazol-6-yl]methylamino}-fenyl)benzamid způsobem popsaným v příkladu 12(a). LCMS (ESI) [M+H]/z vypočteno 489, změřeno 489. Anal. výpočet: C, 73,76, H, 4,95, N, 11,47. Změřeno: C, 73,19, H, 5,09, N, 11,20.

Příklad 16(b)

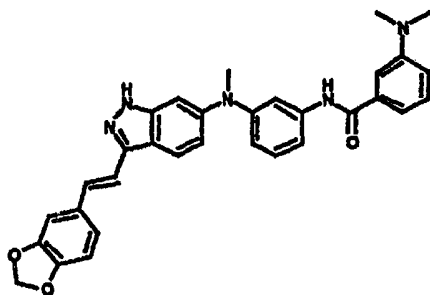
N-(3-{[3-(2-benzo[1,3]dioxol-5-ylvinyl)-1H-indazol-6-yl]-methylamino}fenyl)-3-methylbenzamid



Sloučenina z příkladu 16(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 16(a) uvedeném výše, kromě toho, že m-toluylochlorid byl použit namísto benzoylochloridu. LCMS (ESI) $[M+H]^+/z$ vypočteno 504, změřeno 504. Anal. výpočet: C, 74,09, H, 5,21, N, 11,15. Změřeno: C, 73,04, H, 5,84, N, 10,29.

Příklad 16(c)

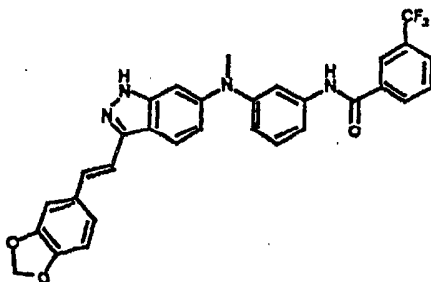
N-(3-([3-(2-benzo[1,3]dioxol-5-ylvinyl)-1H-indazol-6-yl]-methylamino)fenyl)-3-dimethylamino-benzamid



Sloučenina z příkladu 16(c) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 16(a) kromě toho, že m-dimethylaminobenzoylochlorid byl použit namísto benzoylochloridu. LCMS (ESI) $[M+H]^+/z$ vypočteno 532, změřeno 532. Anal. výpočet: C, 72,30, H, 5,50, N, 13,17. Změřeno: C, 71,61, H, 5,80, N, 12,75.

Příklad 16(d)

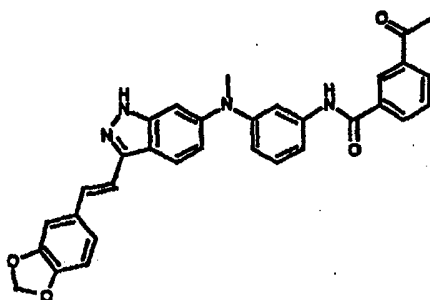
N-(3-{[3-(2-benzo[1,3]dioxol-5-ylvinyl)-1H-indazol-6-yl]-methylamino}fenyl)-3-trifluormethylbenzamid



Sloučenina z příkladu 16(d) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 16(a) kromě toho, že m-trifluormethylbenzoylchlorid byl použit namísto benzoylchloridu. LCMS (ESI) [M+H]/z vypočteno 557, změřeno 557. Anal. výpočet: C, 66,90, H, 4,17, N, 10,07. Změřeno: C, 66,64, H, 4,34, N, 9,82.

Příklad 16(e)

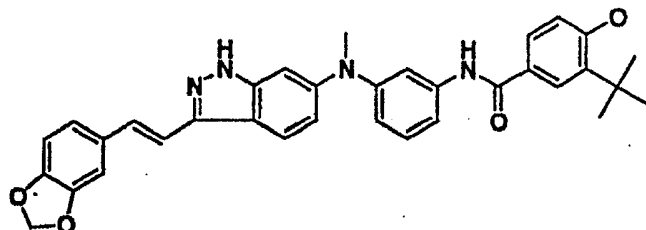
3-acetyl-N-(3-{[3-(2-benzo[1,3]dioxol-5-ylvinyl)-1H-indazol-6-yl]-methylamino}fenyl)benzamid



Sloučenina z příkladu 16(e) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 16(a) kromě toho, že m-acetylbenzoylchlorid byl použit namísto benzoylchloridu. LCMS (ESI) [M+H]/z vypočteno 531, změřeno 531. Anal. výpočet: C, 72,44, H, 4,94, N, 10,56. Změřeno: C, 55,51, H, 4,21, N, 7,58.

Příklad 16(f)

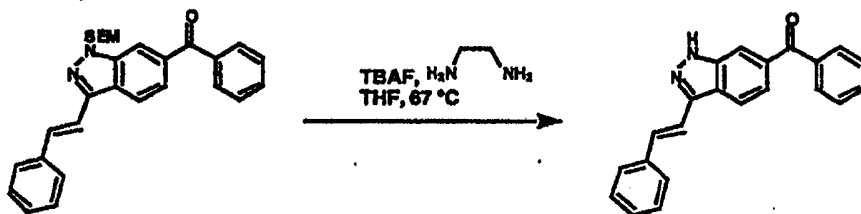
6-[N-(3-(4-terc-butyl-3-hydroxybenzamido) fenyl)-N-methyl-amino]-3-E-[(3,4-methylenedioxyfenyl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 16(f) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 16(a) kromě toho, že 3-terc-butyl-4-hydroxybenzoová kyselina, HATU a TEA byly použity namísto benzoylchloridu. ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,90 (d, 1H, $J = 8,91$ Hz), 7,83 (d, 1H, $J = 2,29$ Hz), 7,63 (dd, 1H, $J = 8,36$ Hz, $J = 2,31$ Hz), 7,54 (t, 1H, $J = 1,97$ Hz), 7,25-7,43 (m, 4H), 7,14-7,20 (m, 2H), 7,06 (dd, 1H, $J = 8,11$ Hz, $J = 1,55$ Hz), 6,96 (dd, 1H, $J = 8,93$ Hz, $J = 1,97$ Hz), 6,90 (m, 1H), 6,82 (t, 2H, $J = 8,18$ Hz), 6,0 (s, 2H), 3,41 (s, 3H), 1,42 (s, 9H).

Příklad 17

Fenyl-(3-styryl-1H-indazol-6-yl)methanon

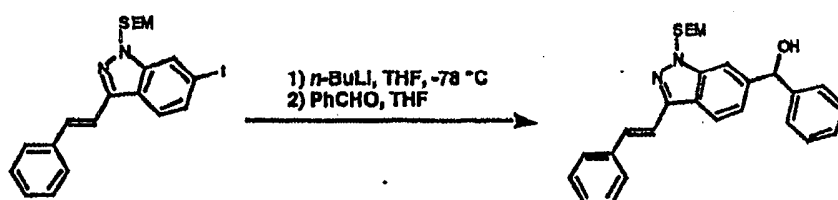


Fenyl-(3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl)methanon byl konvertován na 30 mg (78 %) fenyl-(3-styryl-1H-indazol-6-yl)methanonu, jak bylo popsáno v příkladu 11. MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+/z$ vypočteno 325, změřeno 325.

Anal. výpočet: C, 81,46, H, 4,97, N, 8,46. Změřeno: C, 80,36, H, 5,16, N, 8,51.

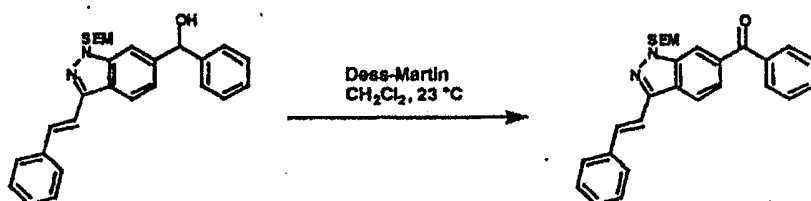
Výchozí látka byla připravena takto:

(i)



K roztoku 143 mg (0,3 mmol) 6-jod-3-styryl-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu, připraveného v příkladu 14, krok (i), v 1 ml THF, ochlazenému na $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ v argonové atmosféře bylo po kapkách přidáno 0,2 ml (0,315 mmol) $n\text{-BuLi}$. Výsledná směs byla míchána v $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 30 minut, pak bylo rychle kanylou přidáno 0,035 ml (0,33 mmol) roztoku benzaldehydu v 0,5 ml THF. Po 0,5 hodině byla reakce zastavena saturovaným vodným NH_4Cl a naředěna 10 ml EtOAc a 3 ml H_2O . Fáze byly odděleny a vodná fáze byla extrahována 2 x 10 ml EtOAc. Sloučené EtOAc vrstvy byly promyty 5 ml solanky, usušeny nad Na_2SO_4 , dekantovány a koncentrovány při sníženém tlaku. Surová směs byla purifikována chromatografií na silikagelu (za eluce směsí hexanu a EtOAc 4:1) za vzniku 68 mg (50% výtěžek) fenyl-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}methanolu. R_f sm = 0,72, R_f p = 0,39 (7:3 směs hexanu a EtOAc), FTIR (tenký film) 3368, 2952, 2893, 1621, 1478, 1449, 1374, 1307, 1249, 1216, 1078, 960, 859, 835 cm^{-1} . MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ z vypočteno 457, změřeno 457.

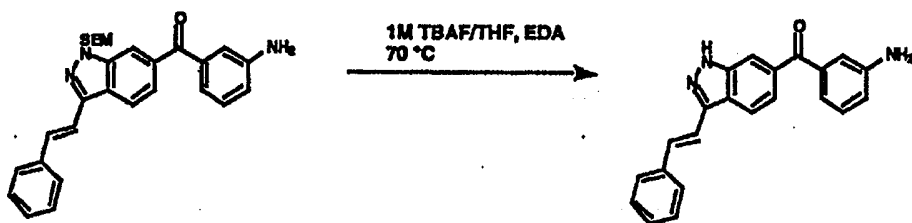
(ii)



K roztoku 68 mg (0,15 mmol) fenyl-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}methanolu ve 3 ml dichlormethanu ve 23 °C v argonové atmosféře bylo přidáno 190 mg (0,45 mmol) jodistanu (Dess-Martinovo činidlo). Výsledná směs byla míchána ve 23 °C po dobu 1 hodiny. Roztok pak byl naředěn 3 ml hexanu, pak filtrován přes celit a koncentrován při sníženém tlaku na pevnou látku. Surová směs byla purifikována chromatografií na silikagelu (za eluce směsí hexanu a EtOAc 9:1) za vzniku 54 mg (79% výtěžek) fenyl-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}-methanolu. R_f sm = 0,41, R_f p = 0,63 (7:3 směs hexanu a EtOAc), FTIR (tenký film) 3059, 2952, 2894, 1659, 1474, 1448, 1307, 1249, 1078, 836, 649 cm^{-1} . MS (ESI) $[M+H]^+/z$ vypočteno 455, změřeno 455.

Příklad 18

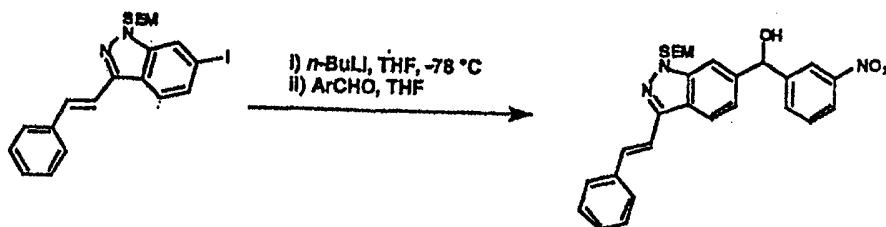
(3-aminofenyl)-(3-styryl-1H-indazol-6-yl)methanon



(3-aminofenyl)-(3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl)methanon byl konvertován na (3-aminofenyl)-(3-styryl-1H-indazol-6-yl)methanon, jak bylo popsáno v příkladu 11. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,07 (dd, 1H, J = 0,71, 8,50 Hz), 7,91 (s, 1H), 7,64 (dd, 1H, J = 1,35, 8,48 Hz), 7,54–7,60 (m, 2H), 7,46 (d, 2H, J = 12,84 Hz), 7,35–7,40 (m, 2H), 7,22–7,31 (m, 2H), 7,16–7,13 (m, 2H), 6,91 (ddd, 1H, J = 1,08, 7,89 Hz). LCMS (ESI) $[M+H]^+/z$ vypočteno 340, změřeno 340.

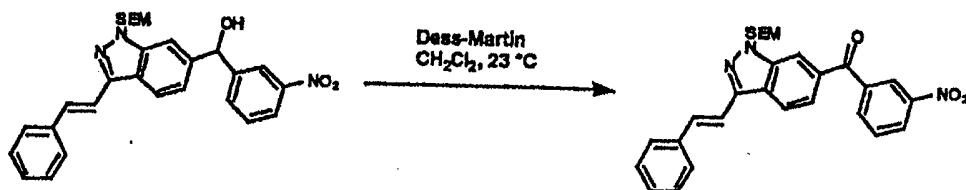
Výchozí látka byla připravena takto:

(i)



6-jod-3-styryl-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazol byl konvertován na (3-nitrofenyl)-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}methanol, jak bylo popsáno v příkladu 17, krok (i). R_f sm = 0,71, R_f p = 0,25 (7:3 směs hexanu a EtOAc), FTIR (tenký film) 3369, 3061, 2952, 2894, 2361, 1620, 1578, 1530, 1478, 1449, 1350, 1308, 1249, 1215, 1080, 961, 859 cm^{-1} , ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,35 (s, 1H), 8,14 (dd, 1H, J = 1,34, 8,14 Hz), 7,99 (d, 1H, J = 8,38 Hz), 7,76 (d, 1H, J = 7,72 Hz), 7,68 (s, 1H), 7,59-7,30 (m, 8H), 7,21 (d, 1H, J = 8,33 Hz), 6,09 (s, 1H), 5,73 (s, 2H), 3,61 (t, 2H, J = 8,30 Hz), 0,90 (t, 2H, J = 8,30 Hz), -0,06 (s, 9H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 148,5, 145,9, 143,4, 142,4, 141,3, 137,1, 132,7, 132,0, 129,5, 128,9, 128,2, 126,7, 122,6, 122,6, 121,8, 121,5, 120,8, 119,6, 107,8, 77,7, 75,4, 66,8, 17,8, -1,3. Anal. výpočet: C, 67,04, H, 6,23, N, 8,38. Změřeno: C, 66,93, H, 6,20, N, 8,41.

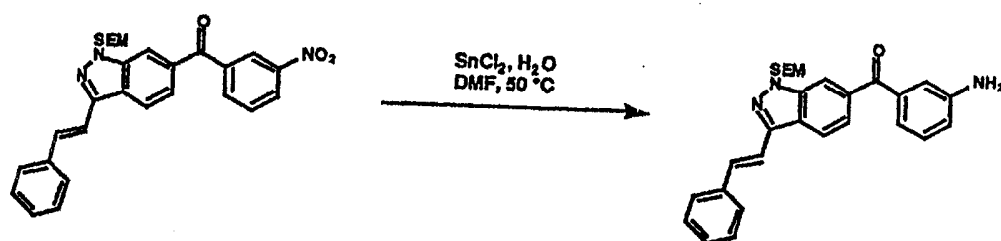
(ii)



(3-nitrofenyl)-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}methanol byl konvertován na (3-nitrofenyl)-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-

indazol-6-yl}methanon, jak bylo popsáno v příkladu 17, krok (ii) 129 mg 91 %). R_f sm = 0,46, R_f p = 0,23 (7:3 směs hexanu a EtOAc), FTIR (tenký film) 3082, 2952, 2894, 1665, 1613, 1532, 1476, 1349, 1298, 1250, 1080, 836, 718 cm^{-1} , LCMS (ESI) $[M+H]^+/z$ vypočteno 500, změřeno 500.

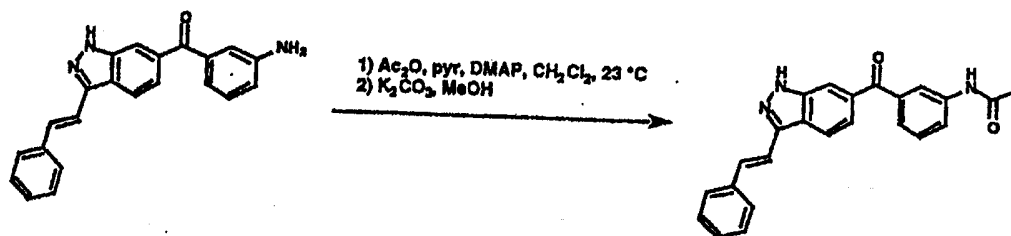
(iii)



(3-nitrofenyl)-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}methanon byl konvertován na (3-aminofenyl)-{3-styryl-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazol-6-yl}methanon, jak bylo popsáno v příkladu 11, krok (iv) 102 mg (84 %). LCMS (ESI) $[M+H]^+/z$ vypočteno 340, změřeno 340.

Příklad 19(a)

N-[3-(3-styryl-1H-indazol-6-karbonyl)fenyl]acetamid

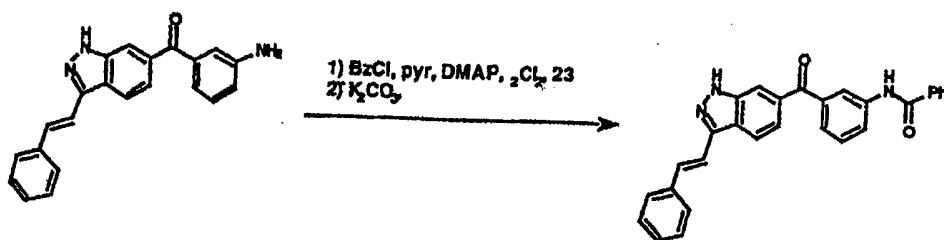


(3-aminofenyl)-(3-styryl-1H-indazol-6-yl)methanon, připravený v příkladu 18, byl konvertován na 12,2 mg (78 %) N-[3-(3-styryl-1H-indazol-6-karbonyl)fenyl]acetamidu, jak bylo popsáno v příkladu 12(a). R_f srn = 0,16, R_f p = 0,35 (8:2 CH_2Cl_2 :EtOAc), LCMS (ESI) $[M+H]^+/z$ vypočteno 382, změřeno 382.

Anal. výpočet: C, 75,57, H, 5,02, N, 11,02. Změřeno: C, 74,32, H, 5,41, N, 10,54.

Příklad 19(b)

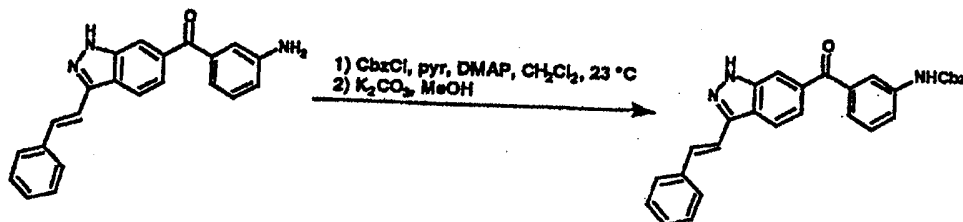
N-[3-(3-styryl-1H-indazol-6-karbonyl)fenyl]benzamid



Sloučenina z příkladu 19(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 19(a) kromě toho, že benzoylchlorid byl použit namísto acetanhydridu. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,40 (s, 1H), 8,02 (d, 1H, $J = 8,49$ Hz), 7,98 (d, 1H, $J = 1,01$ Hz), 7,95 (s, 1H), 7,95 (s, 1H), 7,83–7,88 (m, 3H), 7,65 (dd, 1H, $J = 1,04, 8,48$ Hz), 7,29–7,56 (m, 11H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ z vypočteno 444, změřeno 444. Anal. výpočet: C, 78,54, H, 4,77, N, 9,47. Změřeno: C, 78,01, H, 4,87, N, 9,32.

Příklad 19(c)

Benzylester [3-(3-styryl-1H-indazol-6-karbonyl)fenyl]karbamové kyseliny

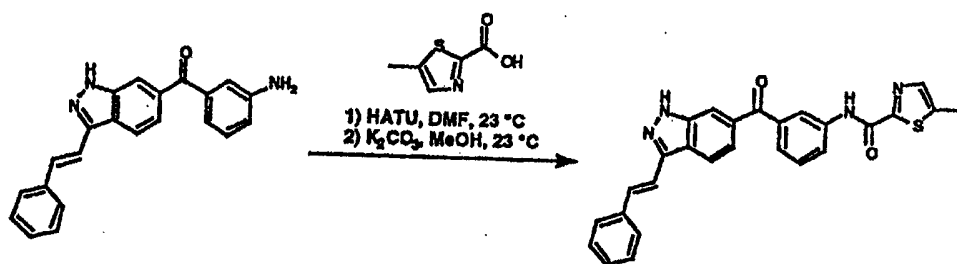


Sloučenina uvedená v názvu byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 19(a) kromě toho, že karboxybenzyloxchlorid byl použit namísto acetanhydridu. ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,37 (d, 1H, $J = 8,48$ Hz), 7,98 (s,

1H), 7,88 (s, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,75 (d, 2H, $J = 7,44$ Hz), 7,61 (d, 2H, $J = 1,81$ Hz), 7,58 (s, 1H), 7,51 (t, 1H, $J = 7,79$ Hz), 7,42 (t, 5H, $J = 6,56$ Hz), 7,31-7,37 (m, 4H), 5,16 (s, 2H), LCMS (ESI) $[M+H]^+/z$ vypočteno 474, změřeno 474. Anal. výpočet: C, 76,09, H, 4,90, N, 8,87. Změřeno: C, 73,82, H, 4,93, N, 8,27.

Příklad 19(d)

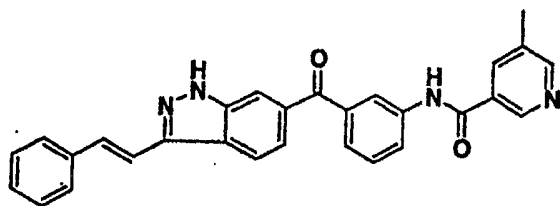
[3-(3-styryl-1H-indazol-6-karbonyl)fenyl]amid 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny



(3-aminofenyl)-(3-styryl-1H-indazol-6-yl)methanon byl konvertován na 9,9 mg 28 %) [3-(3-styryl-1H-indazol-6-karbonyl)fenyl]amidu 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny, jak bylo popsáno v příkladu 12(d). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,15 (d, 1H, $J = 8,49$ Hz), 8,09 (t, 1H, $J = 1,86$ Hz), 8,04 (dd, 1H, $J = 1,0, 7,98$ Hz), 7,99 (s, 1H), 7,75 (dd, 1H, $J = 1,31, 8,47$ Hz), 7,67 (s, 1H), 7,63 (d, 2H, $J = 7,30$ Hz), 7,54-7,58 (m, 3H), 7,50 (s, 1H), 7,42 (t, 3H, $J = 8,09$ Hz), LCMS (ESI) $[M+H]^+/z$ vypočteno 465, změřeno 465.

Příklad 19(e)

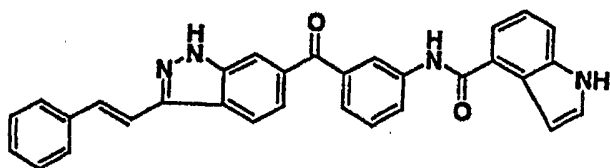
6-[3-(5-methylpyridin-3-ylkarboxamido)benzoyl]-3-E-styryl-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 19(e) byla připravena podobným způsobem jako v příkladu 19(d) kromě toho, že 5-methylnikotinová kyselina byla použita namísto 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9,22 (s, 1H), 8,99 (d, 1H, $J = 0,59$ Hz), 8,67 (s, 1H), 8,24 (s, 1H), 8,16 (d, 1H, $J = 8,32$ Hz), 2,97 (dd, 1H, $J = 8,3$ Hz, $J = 0,94$ Hz), 7,72 (d, 1H, $J = 16,65$ Hz), 7,64 (d, 2H, $J = 7,21$ Hz), 7,19-7,47 (m, 8H), 6,95 (d, 1H, $J = 6,43$ Hz), 2,49 (s, 3H). MS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 459, změřeno 459. Anal. výpočet: C, 75,97. H, 4,84. N, 12,22. Změřeno: C, 75,86. H, 4,94. N, 12,10.

Příklad 19(f)

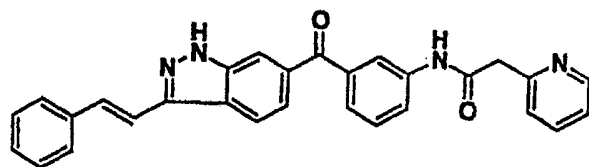
6-[3-(indol-4-ylkarboxamido)benzoyl]-3-E-styryl-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 19(f) byla připravena podobným způsobem jako v příkladu 19 (d) kromě toho, že 1H-indol-4-karboxylová kyselina byla použita namísto 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny. LCMS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 483, změřeno 483. Anal. výpočet: C, 77,16, H, 4,60, N, 11,61. Změřeno: C, 76,15, H, 4,49, N, 11,31.

Příklad 19(g)

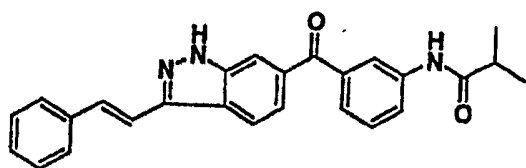
6-[3-(pyridin-2-ylacetamido)benzoyl]-3-E-styryl-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 19(g) byla připravena podobným způsobem jako v příkladu 19(d) kromě toho, že pyridin-2-yloctová kyselina byla použita namísto uvedené sloučeniny. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,50 (dd, 1H, $J = 4,86$ Hz, $J = 0,91$ Hz), 8,37 (d, 1H, $J = 8,51$ Hz), 8,09 (s, 1H), 7,94 (d, 1H, $J = 7,89$ Hz), 7,87 (s, 1H), 7,73–7,79 (m, 3H), 7,25–7,60 (m, 10H), 3,86 (s, 2H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+/z$ vypočteno 459, změřeno 459. Anal. výpočet: C, 75,97, H, 4,84, N, 12,22. Změřeno: C, 74,70, H, 4,83, N, 11,99.

Příklad 19(h)

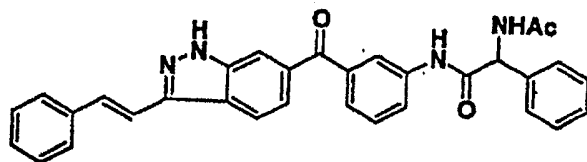
6-[3-(2-methylpropionamido)benzoyl]-3-E-styryl-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 19(h) byla připravena podobným způsobem jako v příkladu 19(a). Isobutyrylchlorid byl použit namísto acetylchloridu. ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,38 (d, 1H, $J = 8,13$ Hz), 8,08 (t, 1H), 7,96 (s, 1H, $J = 7,8$ Hz, $J = 1,91$ Hz), 7,88 (s, 1H), 7,75 (d, 2H, $J = 7,25$ Hz), 7,61 (d, 2H, 2,05 Hz), 7,40–7,58 (m, 5H), 7,31 (m, 1H), 2,60 (m, 1H, $J = 6,82$ Hz), 1,1 (d, 6H, $J = 6,82$ Hz). (MS (ESI+) $[\text{M}+\text{Na}]^+/z$ vypočteno 432, změřeno 432. Anal. výpočet: C, 76,26, H, 5,66, N, 10,26. Změřeno: C, 75,14, H, 5,62, N, 10,08.

Příklad 19(i)

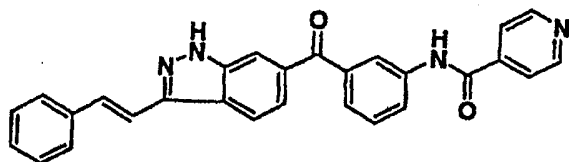
6-[3-(2-acetamido-2-fenylacetamido)benzoyl]-3-E-styryl-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 19(i) byla připravena podobným způsobem jako v příkladu 19(d) kromě toho, že acetylamino-2-fenylactová kyselina byla použita namísto 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,5 (s, 1H), 10,6 (s, 1H), 8,66 (d, 1H, $J = 7,66$ Hz), 8,36 (d, 1H, $J = 8,47$ Hz), 8,07 (s, 1H), 7,92 (d, 1H, $J = 7,63$ Hz), 7,86 (s, 1H), 7,75 (d, 2H, $J = 7,33$ Hz), 7,29-7,60 (m, 13H), 5,61 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz), 1,92 (s, 3H). LCMS (ESI+) $[M+H]^+/z$ vypočteno 515, změřeno 515. Anal. výpočet: C, 74,69. H, 5,09. N, 10,89. Změřeno: C, 73,01. H, 5,01. N, 10,60.

Příklad 19(j)

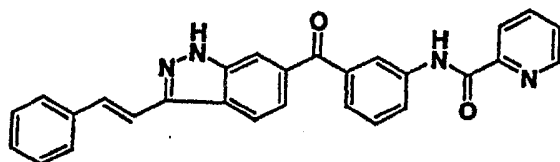
6-[3-(pyridin-4-ylkarboxamido)benzoyl]-3-E-styryl-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 19(j) byla připravena podobným způsobem jako v příkladu 19(d) kromě toho, že isonikotinová kyselina byla použita namísto 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny. MS (ESI+) $[M+Na]^+/z$ vypočteno 467, změřeno 467. Anal. výpočet: C, 75,66. H, 4,54. N, 12,60. Změřeno: C, 74,17. H, 4,62. N, 12,31.

Příklad 19(k)

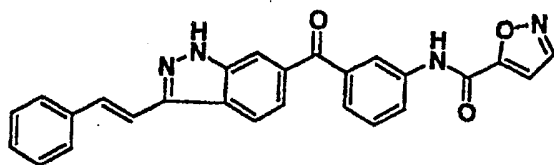
6-[3-(pyridin-2-ylkarboxamido)benzoyl]-3-E-styryl-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 19(k) byla připravena podobným způsobem jako v příkladu 19(d) kromě toho, že pyridin-2-karboxylová kyselina byla použita namísto 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny. MS (ESI+) $[M+Na]/z$ vypočteno 467, změřeno 467. Anal. výpočet: C, 75,66, H, 4,54, N, 12,60. Změřeno: C, 74,17, H, 4,61, N, 12,44.

Příklad 19(l)

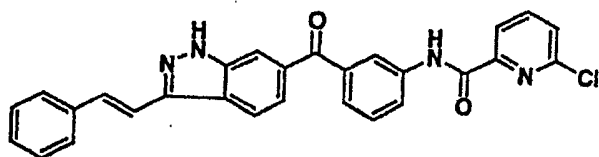
6-[3-(isoxazol-4-ylkarboxamido)benzoyl]-3-E-styryl-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 19(l) byla připravena podobným způsobem jako v příkladu 19(d) kromě toho, že isoxazol-5-karboxylová kyselina byla použita namísto 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny. MS (ESI+) $[M+H]/z$ vypočteno 435, změřeno 435. Anal. výpočet: C, 71,88, H, 4,18, N, 12,90. Změřeno: C, 71,36, H, 4,33, N, 12,47.

Příklad 19(m)

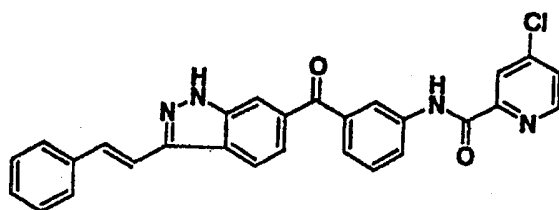
6-[3-(6-chlorpyridin-2-ylkarboxamido)benzoyl]-3-E-styryl-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 19(m) byla připravena podobným způsobem jako v příkladu 19(d) kromě toho, že 6-chlorpyridin-2-karboxylová kyselina byla použita namísto 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny. MS (ESI+) $[M+Na]/z$ vypočteno 501, změřeno 501.

Příklad 19(n)

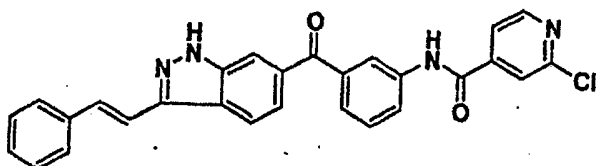
6-[3-(4-chlorpyridin-2-ylkarboxamido)benzoyl]-3-E-styryl-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 19(n) byla připravena podobným způsobem jako v příkladu 19(d) kromě toho, že 4-chlorpyridin-2-karboxylová kyselina byla použita namísto 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny. MS (ESI+) $[M+H]/z$ vypočteno 479, změřeno 479. Anal. výpočet: C, 70,22, H, 4,00, N, 11,70. Změřeno: C, 70,07, H, 4,09, N, 11,64.

Příklad 19(o)

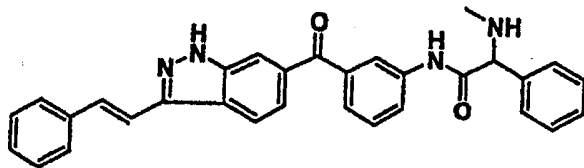
6-[3-(2-chlorpyridin-4-ylkarboxamido)benzoyl]-3-E-styryl-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 19(o) byla připravena podobným způsobem jako v příkladu 19(d) kromě toho, že 2-chlorisotikotinová kyselina byla použita namísto 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny. MS (ESI+) $[M+H]^+/z$ vypočteno 479, změřeno 479.

Příklad 19(p)

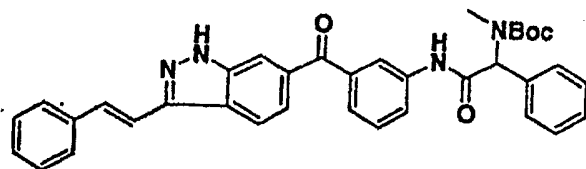
6-[3-(2-methylamino-2-fenylacetamido)benzoyl]-3-E-styryl-1H-indazol



K roztoku 115 mg (0,2 mmol) 6-[3-(2-(N-t-butoxykarbonyl-N-methylamino)-2-fenylacetamido)benzoyl]-3-E-styryl-1H-indazolu ve 2 ml CH_2Cl_2 ochlazenému na 0 °C byly přidány 2 ml TFA. Po 40 minutách byla reakční směs zastavena saturovaným vodným NaHCO_3 , pak extrahován 2 x 10 ml CH_2Cl_2 . Organické vrstvy byly promyty solankou, usušeny nad Na_2SO_4 , dekantovány a koncentrovány. Purifikace chromatografií na silikagelu (1:10 směs methanolu a dichlormethanu) poskytla 38 mg (39 %) 6-[3-(2-methylamino-2-fenylacetamido)benzoyl]-3-E-styryl-1H-indazolu. MS (ESI+) $[M+H]^+/z$ vypočteno 487, změřeno 487. Anal. výpočet: C, 76,52, H, 5,39, N, 11,51. Změřeno: C, 74,99, H, 5,76, N, 10,89.

Výchozí látka byla připravena, jak popsáno níže:

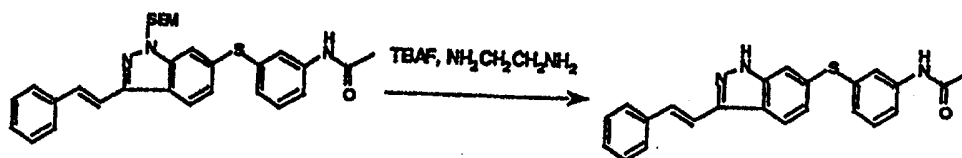
(i) 6-[3-(2-(N-t-butoxykarbonyl-N-methylamino)-2-fenylacet-amido)benzoyl]-3-E-styryl-1H-indazol



6-[3-(2-(N-t-butoxykarbonyl-N-methylamino)-2-fenylacet-amido)benzoyl]-3-E-styryl-1H-indazol byl připraven podobným způsobem jako v příkladu 19(d) kromě toho, že (t-butoxykarbonyl-methylamino)fenyloctová kyselina byla použita namísto 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny. MS (ESI+) [M+H]/z vypočteno 587, změřeno 587.

Příklad 20(a)

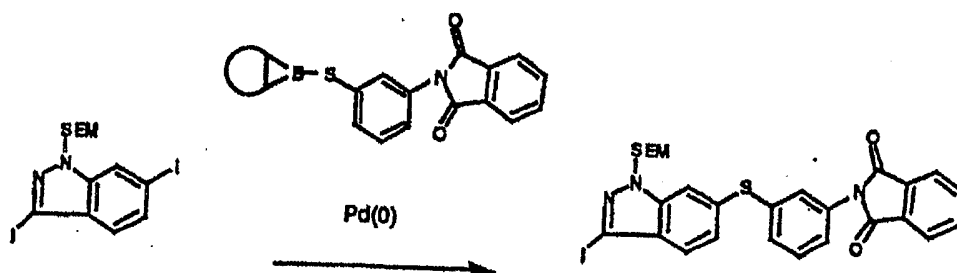
6-(3-acetamidofenylsulfanyl)-3-styryl-1H-indazol



6-(3-acetamidofenylsulfanyl)-3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol byl konvertován na 6-(3-acetamidofenylsulfanyl)-3-styryl-1H-indazol, jak bylo popsáno v příkladu 11 30 mg (81 %): R_f sm 0,65, p 0,35 (10% methanol v dichlormethanu), ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,81 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,59 (š s, 1H), 7,48-7,0 (m, 13H), 1,98 (s, 3H), HRMS (FAB) [M+Na]/z vypočteno 408,1147, změřeno 408,1156.

Výchozí látka byla připravena takto:

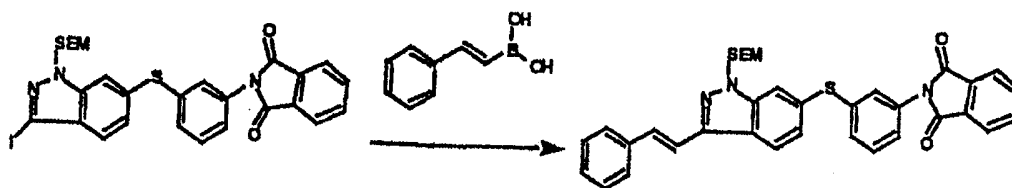
(i)



K 1,4 ekv. 9-BBN adiční sloučenině 3-ftalamidthiofenolu, která byla připravena in situ, jak popsáno níže, bylo přidáno 250 mg (0,5 mmol) 3,6-dijod-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu, 87 mg (0,2 ekv.) Pd(dppf)Cl₂ a 339 mg (1,6 mmol, 3,00 ekv.) fosfátu draselného ve 3,0 ml DMF. Reakční směs byla zahřívána na 90 °C po dobu 9 hodin. Směs byla ochlazená a rozdělena mezi ethylacetát a saturevaný hydrouhličitán sodný. Organická látka byla usušena nad sulfátem sodným, dekantována a koncentrována. Purifikace chromatografií na silikagelu (2:8 směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 159 mg (50 %) 6-(3-ftalamidofenylsulfanyl)-3-jod-1H-indazolu jako oleje: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,93 (m, 2H), 7,79 (m, 2H), 7,62 (s, 1H), 7,5-7,3 (m, 5H), 7,22 (d, 1H), 5,68 (s, 2H), 3,55 (t, 2H, J = 8,2 Hz), 0,87 (t, 2H, J = 8,2 Hz), -,06 (s, 9H), HRMS (FAB) [M+Cs]/z vypočteno 759,9563, změřeno 759,9571.

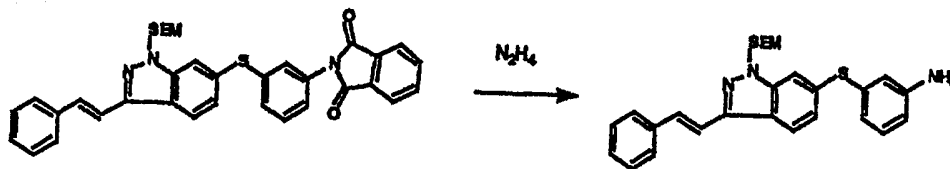
Boronová reagentie byla připravena takto: ve Schlenkové baňce o objemu 10 ml byl usušen 3-ftalamidthiofenol za vysokého vakua. Byl přidán roztok 1,6 ml (1,0 ekv.) 9-BBN (0,5M v THF). Směs byla zahřívána na 55 °C po dobu 2 hodin. Těkává látka byla odstraněna v argonové atmosféře v 70 °C po dobu 1,5 hodiny. Zbytek byl použit bez další manipulace.

(ii)



6-(3-ftalamidofenylsulfanyl)-3-jod-1H-indazol byl konvertován na 6-(3-ftalamidofenylsulfanyl)-3-styryl-1H-indazol, jak bylo popsáno v příkladu 11, krok (iii). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,93 (m, 3H), 7,78 (m 2H), 7,7 (s, 1H), 7,58 (m, 2H), 7,47-7,26 (m, 10H), 5,71 (s, 2H), 3,59 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), 0,89 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), -0,06 (s, 9H), HRMS (FAB) $[\text{M}+\text{Cs}]/z$ vypočteno 736,1066, změřeno 736,1058.

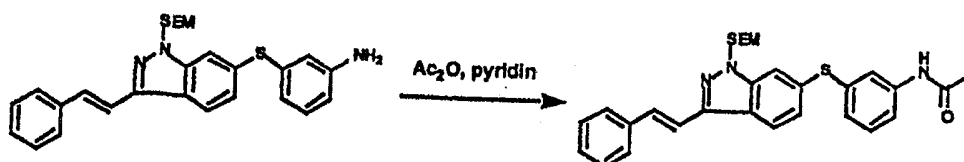
(iii)



K roztoku 121 mg (0,2 mmol) 6-(3-ftalamidofenylsulfanyl)-3-styryl-1H-indazolu ve 3,5 ml ethanolu bylo přidáno 63 μl (2,0 mmol) 10 ekv.) hydrazinu. Reakční směs byla ponechána za míchání ve 23 °C po dobu 45 minut a byla naředěna saturovaným hydrouhličitánem sodným a ethylacetátem. Organická látka byla usušena nad sulfátem sodným, dekantována a koncentrována. Purifikace chromatografií na silikagelu (3:7 směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 79 mg (90 %) 6-(3-aminofenylsulfanyl)-3-styryl-1H-indazolu jako oleje: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,92 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,57 (m, 3H), 7,49 (d, 1H, $J = 16,8$ Hz), 7,4-7,25 (m, 4H), 7,23 (dd, 1H, $J = 1,5, 8,5$ Hz), 7,11 (t, 1H, $J = 7,9$ Hz), 6,79 (m, 1H), 6,70 (t, 1H, $J = 1,9$ Hz), 6,59 (m, 1H), 5,66 (s, 2H), 3,60 (š s, 2H), 3,59 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz),

0,90 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), -0,05 (s, 9H), HRMS (FAB) $[M+H]^+/z$ vypočteno 474,2035, změřeno 474,2019.

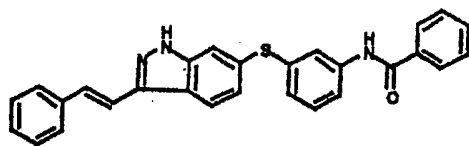
(iv)



K roztoku 43,7 mg (0,10 mmol) 6-(3-aminofenylsulfanyl)-3-styryl-1H-indazolu v 0,5 ml dichlormethanu bylo přidáno 81 μ l (1,0 mmol, 10 ekv.) pyridinu a 47 μ l (0,5 mmol, 5 ekv.) acetanhydridu. Směs byla ponechána za míchání po dobu 10 minut ve 23 °C. Směs byla naředěna vodou a produkt byl extrahován 30% hexanem v ethylacetátu. Organická látka byla promyta 5% kyselinou citronovou a saturovaným hydrouhličitánem sodným. Organická látka byla usušena nad sulfátem sodným, dekantována a koncentrována. Purifikace chromatografií na silikagelu (3:7 směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 50 mg (97 %) 6-(3-acetamidofenylsulfanyl)-3-styryl-1H-indazolu jako oleje: R_f sm 0,33, R_f p 0,18 (směs ethylacetátu a hexanu 3:7), ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,94 (d, 1 H), 7,65-7,1 (m, 13H), 5,70 (s, 2H), 3,62 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), 2,18 (s, 3H), 0,93 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), -0,05 (s, 9H). HRMS (FAB) $[M+Cs]^+/z$ vypočteno 648,1117, změřeno 648,1098.

Příklad 20(b)

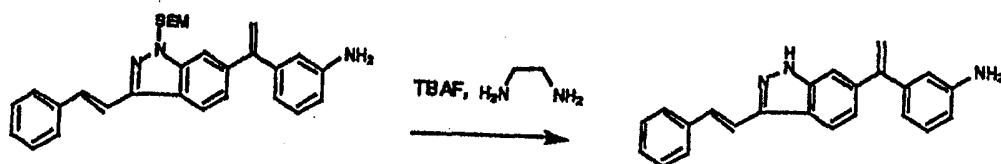
6-(3-(benzoylamido)fenylsulfanyl)-3-styryl-1H-indazol



Sloučenina uvedená v názvu byla připravena jako v příkladu 20(a) kromě toho, že benzoylchlorid byl použit namísto acetanhydridu v kroku (iv). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,03 (s, 1H), 7,73 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,63 (m, 2H), 7,47 (m, 1H), 7,42 (t, 1H, $J = 1,9$ Hz), 7,37 (m, 3H), 7,31 (m, 1H), 7,28-6,98 (m, 9H), HRMS (FAB) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 448,1484, změřeno 448,1490.

Příklad 21

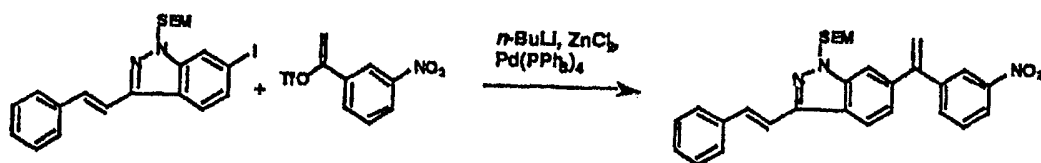
6-(1-(3-aminofenyl)vinyl)-3-styryl-1H-indazol



6-(1-(3-aminofenyl)vinyl)-3-styryl-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazol byl konvertován na 85 mg (85 %) sloučeniny uvedené v názvu, jak bylo popsáno v příkladu 11: R_f sm 0,72, p 0,37 (směs ethylacetátu a hexanu 1:1), FTIR (tenký film) 3385, 3169, 2953, 1621, 1581, 1489, 1447, 1349, 1251, 1165, 1071, 959, 906, 870, 817 cm^{-1} , ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,98 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,60 (m, 2H), 7,51 (s, 1H), 7,48 (s, 1H), 7,40 (m, 3H), 7,29 (m, 2H), 7,15 (m, 1H), 6,78 (m, 1H), 6,68 (m, 2H), 5,50 (s, 2H), 3,65 (š s, 2H), MS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 338, změřeno 338, MS (ES) $[\text{M}-\text{H}]/z$ vypočteno 336, změřeno 336.

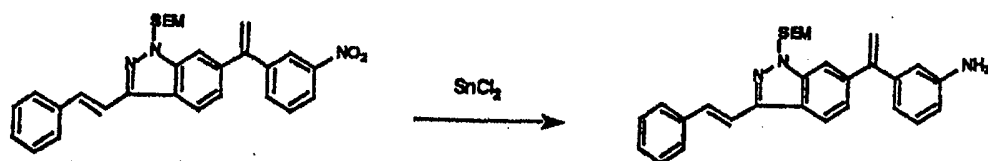
Výchozí látka byla připravena takto:

(i)



K roztoku 330 mg (0,693 mmol) 6-jod-3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu, připraveného v příkladu 14, krok (i), ve 3,0 ml THF bylo v $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ přidáno 0,56 ml (1,2 ekv.) 1,5M n-butyllithia. Po 20 minutách byl tento roztok pak přidán ke 170 mg bezvodého chloridu zinečnatého a směs byla zahřáta na $23\text{ }^{\circ}\text{C}$ a míchána po dobu 15 minut. K této směsi bylo přidáno 146 μl (1,05 ekv.) 1-(3-nitrofenyl)vinyltriflátu a 40 mg (0,05 ekv.) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$. Tato směs byla míchána po dobu 30 minut, byla rozdělena mezi ethylacetát a saturovaný hydrouhličitan sodný a organická vrstva byla oddělena. Organická látka byla usušena nad sulfátem sodným, dekantována a koncentrována při sníženém tlaku. Purifikace chromatografií na silikagelu (1:9 směs ethylacetátu a hexanu) pak druhá kolona (1% směs ethylacetátu a benzenu) poskytla 180 mg (52 %) 6-(1-(3-nitrofenyl)vinyl)-3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu jako oleje: FTIR (tenký film) 2951, 1616, 1530, 1477, 1448, 1348, 7305, 1248, 1217, 1077, 961, 913, 859 cm^{-1} , ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,26 (t, 1H, $J = 1,9\text{ Hz}$), 8,21 (m, 1H), 8,00 (d, 1H, $J = 8,5\text{ Hz}$), 7,69 (dt, 1H, $J = 1,4, 7,8$), 7,62–7,28 (m, 9H), 7,19 (dd, 1H, $J = 1,4, 8,4\text{ Hz}$), 5,72 (s, 3H), 5,69 (s, 1H), 3,60 (t, 2H, $J = 8,2\text{ Hz}$), 0,89 (t, 2H, $J = 8,2\text{ Hz}$), $-0,05$ (s, 9H), ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 149,9, 149,6, 144,7, 144,5, 142,8, 140,7, 138,6, 135,6, 133,1, 130,7, 130,2, 129,4, 128,0, 124,4, 124,2, 124,1, 123,8, 122,6, 121,2, 118,9, 111,0, 79,2, 68,0, 19,2, 0,0, HRMS (FAB) $[\text{M}+\text{Na}]/z$ vypočteno 520,2031, změřeno 520,2046.

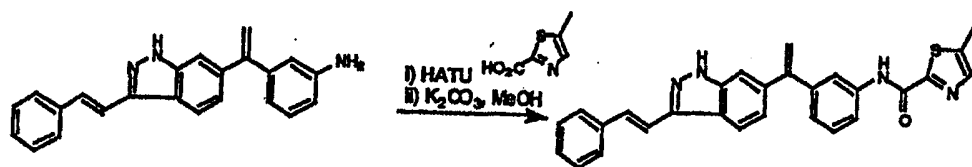
(ii)



6-(1-(3-nitrofenyl)vinyl)-3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol byl konvertován na 6-(1-(3-aminofenyl)vinyl)-3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol, jak bylo popsáno v příkladu 11, krok (iv) 140 mg (95 %): R_f sm 0,59, p 0,46 (směs ethylacetátu a hexanu 4:6), FTIR (tenký film) 3460, 3366, 3223, 3084, 3028, 2952, 2894, 2246, 1616, 1601, 1581, 1489, 1474, 1448, 1359, 1303, 1249, 1217, 1076, 961, 909, 860, 836, 733, 692 cm^{-1} , ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,96 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,59 (m, 3H), 7,50 (s, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,40 (m, 2H), 7,30 (m, 1H), 7,25 (m, 1H), 7,14 (m, 1H), 6,77 (m, 1H), 6,68 (m, 2H), ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 151,6, 147,7, 144,6, 143,9, 142,8, 142,4, 138,6, 132,8, 130,6, 130,2, 129,3, 128,0, 124,4, 123,6, 121,9, 121,5, 120,2, 116,4, 116,1, 110,8, 79,0, 67,9, 19,2, 0,0, HRMS (FAB) $[M+\text{Na}]/z$ vypočteno 490,2291, změřeno 490,2302.

Příklad 22(a)

6-(1-(3-(5-methylthiazol-2-karboxoylamido)fenyl)vinyl)-3-styryl-1H-indazol

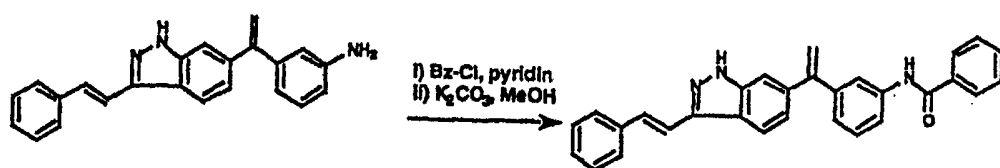


6-(1-(3-aminofenyl)vinyl)-3-styryl-1H-indazol byl konvertován na 20 mg (72 %) sloučeniny uvedené v názvu, jak bylo popsáno v příkladu 12(d): FTIR (tenký film) 3271, 1673, 1605, 1585, 1538, 1486, 1428, 1349, 1304, 1090, 960, 907, 871 cm^{-1} , ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 10,7 (š s, 1H), 9,09 (s, 1H), 8,0 (d, 1H), 7,79 (m, 1H), 7,60 (m, 3H), 7,51 (m, 3H), 7,44-7,15 (m, 7H), 5,59 (s, 2H), 2,54 (s, 3H), ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 162,2, 157,9, 149,8, 144,4, 142,8, 142,2, 141,9,

141,5, 140,6, 137,63, 137,56, 131,6, 129,5, 129,1, 128,3, 126,9, 125,1, 122,6, 121,2, 120,9, 120,5, 120,2, 119,8, 116,1, 110,2, 12,8, HRMS (FAB) $[M+H]^+/z$ vypočteno 463,1593, změřeno 463,1582.

Příklad 22(b)

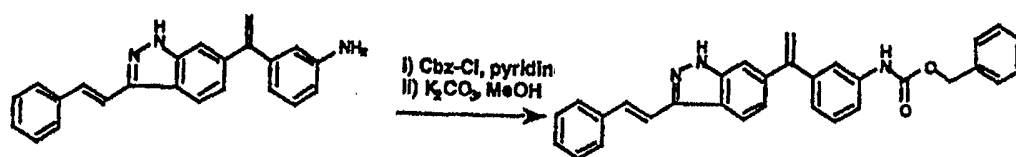
6-(1-(3-(benzoylamido)fenyl)vinyl)-3-styryl-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 22(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 22(a) kromě toho, že benzoylchlorid byl použit namísto 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny a HATU. FTIR (tenký film) 3243, 1651, 1606, 1580, 1538, 1485, 1447, 1428, 1349, 1307, 1258, 1073, 959, 907 cm^{-1} , ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9,09 (s, 1H), 7,99 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,78 (m, 1H), 7,60 (m, 3H), 7,51 (m, 3H), 7,43-7,15 (m, 10H), 5,56 (d, 2H, $J = 3,2$ Hz), ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 166,5, 149,7, 144,3, 142,7, 142,1, 140,6, 138,1, 137,6, 135,0, 132,3, 131,6, 129,4, 129,1, 128,3, 127,4, 126,9, 125,0, 122,5, 120,9, 120,8, 120,6, 120,5, 115,9, 110,2, HRMS (FAB) $[M+H]^+/z$ vypočteno 442,1919, změřeno 442,1919.

Příklad 22(c)

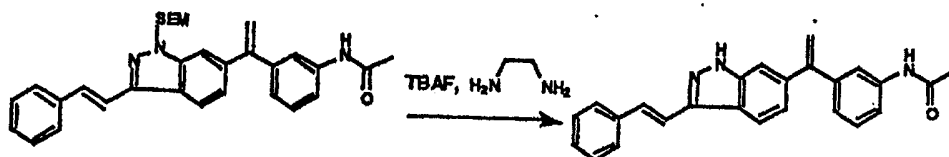
6-(1-(3-(benzoylamido)fenyl)vinyl)-3-styryl-1H-indazol



Sloučenina uvedená v názvu byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 22(a) kromě toho, že karbobenzyloxychlorid byl použit namísto 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny a HATU. FTIR (tenký film) 3305, 1712, 1606, 1586, 1537, 1487, 1445, 1348, 1216, 1059, 959, 908 cm^{-1} , ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,99 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,6-7,0 (m, 18H), 5,55 (s, 2H), 5,19 (s, 2H), ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 153,9, 149,8, 144,3, 142,7, 142,1, 140,7, 138,2, 137,6, 136,3, 131,7, 129,4, 129,1, 129,0, 128,7, 128,7, 128,3, 126,9, 124,0, 122,6, 121,1, 120,8, 120,4, 115,9, 110,1, 67,4, HRMS (FAB) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 472,025, změřeno 472,2026.

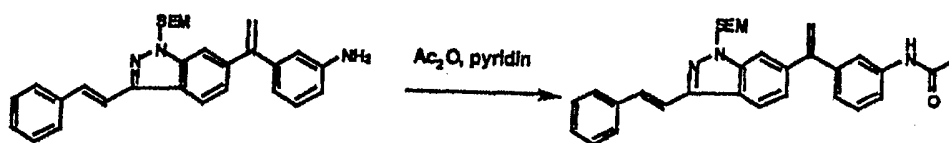
Příklad 23

6-(1-(3-acetamidofenyl)vinyl)-3-styryl-1H-indazol



6-(1-(3-acetamidofenyl)vinyl)-3-styryl-1-[2-trimethylsilanyloxyethyl]-1H-indazol byl konvertován na 6-(1-(3-acetamidofenyl)vinyl)-3-styryl-1H-indazol, jak bylo popsáno v příkladu 11: FTIR (tenký film) 3252, 1667, 1606, 1557, 1486 cm^{-1} , ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 10,4 (š s, 1H), 7,91 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,5-7,0 (m, 13H), 5,47 (s, 2H), 2,10 (s, 3H), MS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 380, změřeno 380, $[\text{M}-\text{H}]/z$ vypočteno 378, změřeno 378.

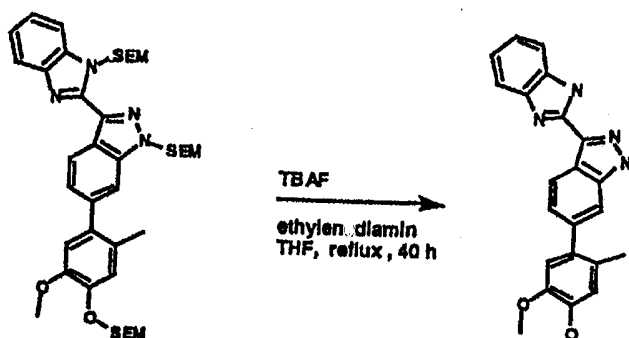
Výchozí látka byla připravena takto:



6-(1-(3-aminofenyl)vinyl)-3-styryl-1-[2-trimethylsilanylethoxymethyl]-1H-indazol byl konvertován na 6-(1-(3-acetamidofenyl)vinyl)-3-styryl-1-[2-trimethylsilanylethoxymethyl]-1H-indazol, jak bylo popsáno v příkladu 12(a): R_f sm 0,42, p 0,26 (směs ethylacetátu a hexanu 4:6), FTIR (tenký film) 3305, 3059, 2952, 1667, 1608, 1585, 1555, 1486, 1448, 1433, 1369, 1306, 1249, 1076, 912, 859, 836, 748, 693 cm^{-1} , ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,98 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,7-7,4 (m, 9H), 7,35 (m, 2H), 7,26 (dd, 1H, $J = 1,3, 8,4$ Hz), 7,16 (bd, 1H, $J = 7,8$ Hz), 5,75 (s, 2H), 5,62 (s, 1H), 5,61 (s, 1H), 3,66 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), 2,16 (s, 3H), 0,98 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), -0,02 (s, 9H), ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 169,8, 150,9, 144,6, 143,5, 142,8, 142,0, 139,4, 138,6, 132,9, 130,3, 129,3, 127,9, 125,6, 124,2, 123,7, 122,0, 121,3, 121,0, 117,1, 110,8, 68,0, 25,8, 19,1, 0,0, HRMS (FAB) $[\text{M}+\text{Na}]/z$ vypočteno 532,2396, změřeno 532,2410.

Příklad 24(a)

4-[3-(1-H-benzimidazol-2-yl)-1H-indazol-6-yl]-2-methoxy-5-methylfenol

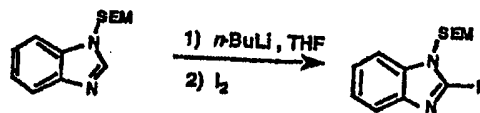


326 mg (0,43 mmol) 6-{5-methoxy-2-methyl-4-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethoxy]fenyl}-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-3-{1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-benzimidazol-2-yl}-1H-indazolu bylo mícháno ve 4,5 ml 1M roztoku TBAF v THF, který byl koncentrován ve vakuu na 2,5 ml,

a 0,6 ml (8,9 mmol) ethylendiaminu ve varu pod zpětným chladičem po dobu 40 hodin. Reakce byla naředěna 40 ml/5 ml směsí ethylacetátu a THF a promyta 20 ml H₂O a 20 ml solanky. Organické vrstvy byly usušeny (MgSO₄) a koncentrovány ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu (60% směs THF a hexanu) a pak precipitace z chloroformu poskytla 108 mg (68 %) 4-[3-(1-H-benzimidazol-2-yl)-1H-indazol-6-yl]-2-methoxy-5-methylfenolu jako bílé pevné látky. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 13,62 (s, 1H), 13,05 (š s, 1H), 9,01 (s, 1H), 8,50 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,62 (š s, 2H), 7,49 (s, 1H), 7,28-7,20 (m, 3H), 6,85 (s, 1H), 6,74 (s, 1H), 3,77 (s, 3H), 2,15 (s, 3H). Anal. (C₂₂H₁₈N₄O₂ · 1,3 H₂O) C, H, N. Vypočteno C, 67,10, H, 5,27, N, 14,23. Změřeno: C, 67,30, H, 5,27, N, 14,11.

Výchozí látky byly připraveny takto:

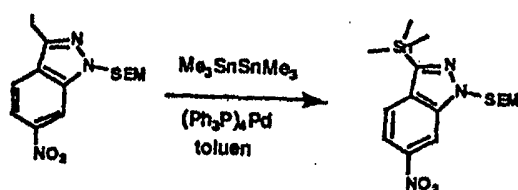
(i)



Příprava 2-jod-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-benzimidazolu. Roztok 5,029 g (20,25 mmol) 1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-benzimidazolu (viz Witten et al., J. Org. Chem., 51, 1891-1894 1986) v 50 ml THF byl ochlazen na -78 °C a přidáván po kapkách po dobu 12 minut kanylou do baňky obsahující 12,2 ml 2,5M *n*-butyllithia v hexanu, ve 30 ml THF v -78 °C v argonové atmosféře. Po míchání po dobu 25 minut v -78 °C, baňka byla zahřáta na 0 °C po dobu 10 minut, pak byla opět ochlazená na -78 °C. Tento roztok pak byl přidán kanylou do druhé baňky obsahující 25,7 g (101 mmol) jodu v 50 ml THF v -78 °C. Jak bylo přidávání ukončeno (~5 minut), chladicí lázeň byla odstraněna a míchání pokračovalo po dobu 30 minut. Reakční směs byla rozdělena mezi 500 ml ethylacetátu a 100 ml vody. Organická vrstva byla promyta 2 x 100 ml

saturovaného vodného metabisulfitu sodného, aby se odstranila tmavá barva jodu, usušena (MgSO_4) a koncentrována ve vakuu. Purifikace velmi rychlou chromatografií (10% až 50% směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 4,79 g (63 %) čistého 2-jod-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-benzimidazolu jako žluté pevné látky. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,76-7,72 (m, 1H), 7,54-7,51 (m, 1H), 7,29-7,25 (m, 2H), 5,54 (s, 2H), 3,59 (t, 2H, $J = 8,1$ Hz), 0,92 (t, 2H, $J = 8,1$ Hz), -0,03 (s, 9H). Anal. ($\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{IN}_2\text{OS}$) C, H. Vypočteno C, 41,71, H, 5,12, I, 33,90, N, 7,48. Změřeno: C, 41,90, H, 5,09, I, 34,00, N, 7,37.

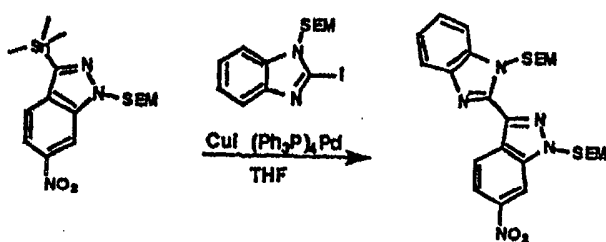
(ii)



Příprava 6-nitro-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-3-(trimethylstannanyl)-1H-indazolu: 10,0 g (23,9 mmol) 3-jod-6-nitro-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu a 10,0 g (30,5 mmol) hexamethyldicínu bylo vloženo do 45 ml suchého toluenu v baňce probublávané argonem. Bylo přidáno 300 mg (0,26 mmol) tetrakis(trifenylfosfin)palladia(0) a reakce byla míchána ve varu pod zpětným chladičem v argonové atmosféře po dobu 2,5 hodiny. Reakce byla ochlazena na 23 °C a naředěna 60 ml etheru. Organické vrstvy byly promyty 20 ml 0,1N HCl a 20 ml solanky, usušeny (MgSO_4) a koncentrovány. Purifikace chromatografií na silikagelu (3% až 8% směs etheru a hexanu) poskytla 7,70 g (71 %) 6-nitro-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-3-(trimethylstannanyl)-1H-indazolu, jako světle žluté pevné látky. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,53 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz), 8,03 (dd, 1H, $J = 8,7, 1,8$ Hz), 7,81 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 5,84 (s, 2H), 3,58 (t, 2H, $J = 8,1$ Hz), 0,90 (t, 2H, $J = 8,1$

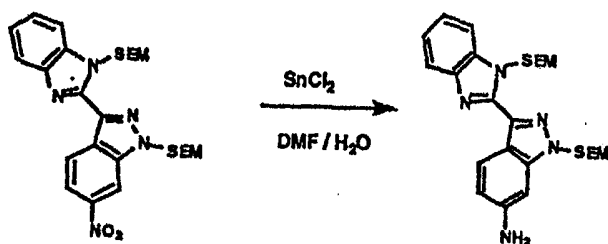
Hz), 0,50 (t, 9H, $J = 28,2$ Hz), -0,05 (s, 9H). Anal. ($C_{16}H_{27}N_3O_3SiSn$) C, H, N. Vypočteno C, 42,13, H, 5,97, N, 9,21. Změřeno: C, 42,39, H, 6,01, N, 9,26.

(iii)



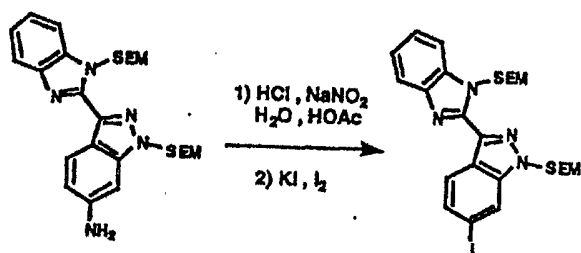
Příprava 6-nitro-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-3-{1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-benzimidazol-2-yl}-1H-indazolu: 7,50 g (16,4 mmol) 6-nitro-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-3-(trimethylstannanyl)-1H-indazolu, 6,50 g (17,4 mmol) 3-jod-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-benzimidazolu a 313 mg (1,64 mmol) jodidu měďného bylo vloženo do 150 ml suchého THF v baňce probublávané argonem. Bylo přidáno tetrakis(trifenylfosfin)palladium(0) a reakce byla míchána ve varu pod zpětným chladičem v argonové atmosféře po dobu 23 hodin. Reakce byla ochlazená a adsorbována přímo na silikagelu (~16 g). Purifikace chromatografií na silikagelu (4% až 15% směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 7,28 g (82 %) 6-nitro-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-3-{1-[2-(dimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-benzimidazol-2-yl}-1H-indazolu, jako světle žluté pevné látky. ^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,91 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz), 8,59 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz), 8,22 (dd, 1H, $J = 8,7, 1,8$ Hz), 7,92-7,89 (m, 1H), 7,66-7,62 (m, 1H), 7,40-7,36 (m, 2H), 6,24 (s, 2H), 5,90 (s, 2H), 3,68-3,59 (m, 4H), 0,94 (t, 2H, $J = 8,1$ Hz), 0,86 (t, 2H, $J = 8,1$ Hz), -0,04 (s, 9H), -0,15 (s, 9H). Anal. ($C_{26}H_{37}N_5O_4Si_2$) C, H, N. Vypočteno C, 57,85, H, 6,91, N, 12,97. Změřeno: C, 57,60, H, 6,81, N, 12,82.

(iv)



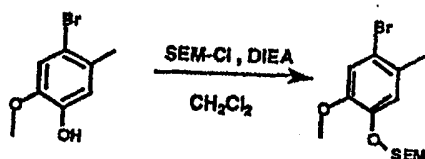
Příprava 6-amino-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-3-{1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-benzimidazol-2-yl}-1H-indazolu: 12,0 g (63,3 mmol) chloridu cínatého bylo přidáno k roztoku 7,18 g (13,3 mmol) 6-nitro-1-(2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl)-3-{1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-benzimidazol-2-yl}-1H-indazolu v 160 ml/10 ml směsi DMF/H₂O a reakce byla míchána v 50 °C po dobu 2,5 hodiny. Reakce byla ochlazena na 0 °C a byl pomalu přidán saturovaný hydrouhličitán sodný, za míchání, dokud všechna pěna ze zastavení reakce nepoklesla. Látka byla koncentrována ve vakuu a nabrána do 100 ml etheru. Nerozpustná látka byla odstraněna filtrací a promyta 50 ml etheru. Filtrát byl promyt 50 ml solanky, usušen (Na₂SO₄) a koncentrován ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu (25% směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 6,05 g (89 %) 6-amino-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-3-{1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-benzimidazol-2-yl}-1H-indazolu, jako světle žluté voskové pevné látky. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,40 (d, 1H, J = 9,0 Hz), 7,89–7,86 (m, 1H), 7,63–7,60 (m, 1H), 7,35–7,31 (m, 2H), 6,78 (dd, 1H, J = 8,7, 1,8 Hz), 6,75 (s, 1H), 6,25 (s, 2H), 5,69 (s, 2H), 3,93 (š s, 2H), 3,65–3,55 (m, 4H), 0,93 (t, 2H, J = 8,1 Hz), 0,85 (t, 2H, J = 8,1 Hz), -0,04 (s, 9H), -0,15 (s, 9H). Anal. (C₂₆H₃₉N₅O₂Si₂) C, H, N. Vypočteno C, 61,26, H, 7,71, N, 13,74. Změřeno: C, 61,18, H, 7,65, N, 13,82.

(v)



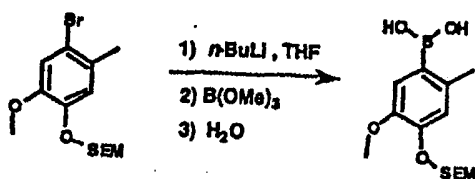
Příprava 6-jod-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-3-{1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-benzimidazol-2-yl}-1H-indazolu: Roztok 500 mg (0,98 mmol) 6-amino-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-3-{1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-benzimidazol-2-yl}-1H-indazolu v 1,5 ml octové kyseliny byl naředěn 1,0 ml H₂O a míchán při teplotě 0 °C. Bylo přidáno 250 μl (~3 mmol) koncentrované HCl 250 μl v H₂O. Bylo přidáno 90 mg (1,3 mmol) dusičnanu sodného ve 300 μl H₂O a reakce byla míchána po dobu 8 minut. Bylo přidáno 10 mg jodu a roztok 250 mg (1,3 mmol) jodidu draselného ve 250 μl H₂O a pěnící reakce byla míchána po dobu 30 minut ve 23 °C. Reakce byla naředěna 25 ml H₂O a extrahován 2 x 20 ml ethylacetátu. Organické vrstvy byly promyty 10 ml saturovaného roztoku metabisulfitu sodného a 10 ml solanky, usušena (Na₂SO₄) a koncentrována ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu (8% směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 316 mg (52 %) 6-jod-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-3-{1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-benzimidazol-2-yl}-1H-indazolu, jako světle žlutého oleje, který pomalu krystalizoval na bílou pevnou látku. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,45 (d, 1H, J = 9,0 Hz), 8,05 (s, 1H), 7,91-7,88 (m, 1H), 7,67-7,62 (m, 2H), 7,38-7,34 (m, 2H), 6,24 (s, 2H), 5,77 (s, 2H), 3,65-3,57 (m, 4H), 0,93 (t, 2H, J = 8,1 Hz), 0,85 (t, 2H, J = 8,1 Hz), -0,04 (s, 9H), -0,15 (s, 9H). Anal. (C₂₆H₃₇IN₄O₂Si₂) C, H, N. Vypočteno C, 50,31, H, 6,01, N, 9,03. Změřeno: C, 50,55, H, 6,08, N, 9,00.

(vi)



Příprava [2-(4-brom-2-methoxy-5-methylfenoxymethoxy)-ethyl]trimethylsilanu: 4-brom-2-methoxy-5-methylfenol (viz Chien-Hsun et al., Syn. Lett., 12, 1351-1352, 1997) byl míchán ve 100 ml suchého CH_2Cl_2 ve 23 °C. Bylo přidáno 6,05 ml (34,6 mmol) DIEA, a pak 5,6 ml (31,7 mmol) 2-(trimethylsilyl)ethoxy-methylchloridu. Po míchání po dobu 1 hodiny byl roztok promyt H_2O , 0,1N HCl, H_2O , saturovaným NaHCO_3 a solankou, po 25 ml. Organické vrstvy byly usušeny (Na_2SO_4) a koncentrovány ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu (6% směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 9,06 g (91 %) [2-(4-brom-2-methoxy-5-methylfenoxymethoxy)ethyl]trimethylsilanu jako čirého oleje. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,06 (s, 1H), 7,02 (s, 1H), 5,24 (s, 2H), 3,84 (s, 3H), 3,79 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 2,31 (s, 3H), 0,96 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 0,01 (s, 9H).

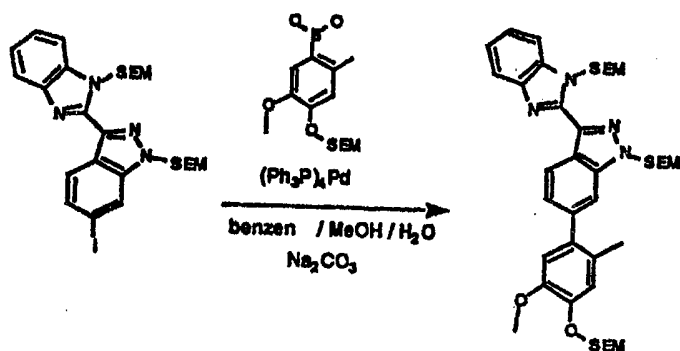
(vii)



Příprava 5-methoxy-2-methyl-4-[2-(trimethylsilyl)ethoxy-methoxy]fenylboronové kyseliny: 2,6 g (7,5 mmol) [2-(4-brom-2-methoxy-5-methylfenoxymethoxy)ethyl]trimethylsilanu bylo mícháno v 10 ml suchého TFA v -78 °C v argonové atmosféře. Po kapkách bylo přidáno 3,75 ml (9,36 mmol) 2,5M n-butyllithia v hexanu, a reakce byla míchána po dobu 30 minut předtím, než byla přenesena kanylou do baňky s 8,4 ml (75 mmol)

trimethylborátu v 15 ml THF, která byla také míchána v $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ v argonové atmosféře. Poté, co bylo přidávání ukončeno, byla reakce míchána 30 minut v $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, a pak 30 minut při zahřívání na $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Reakce pak byla zastavena 20 ml H_2O , acidifikována 0,1N HCl a extrahována 2 x 25 ml ethylacetátu. Organické vrstvy byly promyty 20 ml solanky, usušeny (Na_2SO_4) a koncentrovány ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu (20% až 50% směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 1,11 g (47 %) 5-methoxy-2-methyl-4-[2-(trimethylsilanyl)-ethoxymethoxy]fenylboronové kyseliny jako bílé pevné látky. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,78 (s, 1H), 7,10 (s, 1H), 5,36 (s, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,83 (t, 2H, $J = 8,4\text{ Hz}$), 2,79 (s, 3H), 0,98 (t, 2H, $J = 8,4\text{ Hz}$), 0,01 (s, 9H). Anal. ($\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{BO}_5\text{Si-H}_2\text{O}$) C, H. Vypočteno C, 57,15, H, 7,88. Změřeno: C, 56,89, H, 7,87.

(viii)

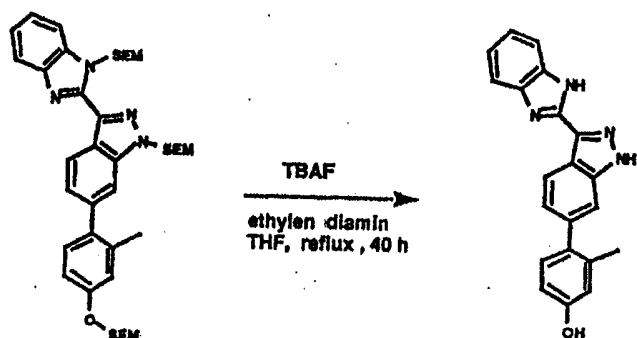


Příprava 6-{5-methoxy-2-methyl-4-[2-(trimethylsilanyl)-ethoxymethoxy]fenyl}-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-3-{1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-benzimidazol-2-yl}-1H-indazolu. 350 mg (0,56 mmol) 6-jod-1-[2-(trimethylsilanyl)-ethoxymethyl]-3-{1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-benzimidazol-2-yl}-1H-indazolu, 211 mg (0,68 mmol) 5-methoxy-2-methyl-4-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethoxy]fenylboronové kyseliny a 72 mg (0,68 mmol) uhličitanu sodného byly míchány ve směsi 5 ml benzenu, 330 μl H_2O a 1 ml methanolu v baňce

probublávané argonem. Bylo přidáno tetrakis(trifenylfosfin)palladium(0) a reakce byla míchána ve varu pod zpětným chladičem v argonové atmosféře po dobu 16 hodin. Po ochlazení na 23 °C byla reakce naředěna 20 ml etheru, promyta 10 ml H₂O a 10 ml solanky, usušena (Na₂SO₄) a koncentrována ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu (15% směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 382 mg (89 %) 6-{5-methoxy-2-methyl-4-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethoxy]fenyl}-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-3-{1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-benzimidazol-2-yl}-1H-indazolu, jako bílé pevné látky. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃,) δ 8,68 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,93-7,90 (m, 1H), 7,67-7,63 (m, 1H), 7,54 (s, 1H), 7,38-7,32 (m, 3H), 7,13 (s, 1H), 6,86 (s, 1H), 6,29 (s, 2H), 5,83 (s, 2H), 5,34 (s, 2H), 3,89 (s, 3H), 3,86 (t, 2H, J = 8,4 Hz), 3,69-3,58 (m, 4H), 2,22 (s, 3H), 1,01 (t, 2H, J = 8,4 Hz), 0,95-0,83 (m, 4H), 0,03 (s, 9H), -0,05 (s, 9H), -0,15 (s, 9H). Anal. (C₄₀H₆₀N₄O₅Si₃) C, H, N. Vypočteno C, 63,12, H, 7,95, N, 7,36. Změřeno: C, 63,22, H, 7,93, N, 7,46.

Příklad 24(b)

4-[3-(1-H-benzimidazol-2-yl)-1H-indazol-6-yl]-3-methylfenol

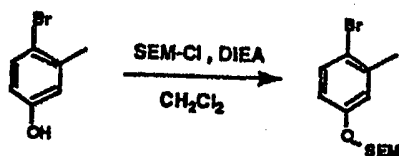


Pro přípravu sloučeniny uvedené v názvu byl následován postup popsáný v příkladu 24(a), kde 2-methyl-4-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethoxy]fenylboronová kyselina (připravená, jak popsáno níže) byla použita namísto 5-methoxy-2-methyl-4-[2-

(trimethylsilanyl)ethoxymethoxy]fenylboronové kyseliny v kroku (viii). ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13,60 (s, 1H), 12,99 (š s, 1H), 9,41 (s, 1H), 8,49 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,72 (š s, 1H), 7,52 (š s, 1H), 7,45 (s, 1H), 7,25-7,21 (m, 3H), 7,12 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 6,73-6,67 (m, 2H), 2,20 (s, 3H). Anal. ($\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O} \cdot 0,7 \text{ H}_2\text{O}$) C, H, N. Vypočteno C, 71,45, H, 4,97, N, 15,87. Změřeno: C, 71,44, H, 4,96, N, 15,77.

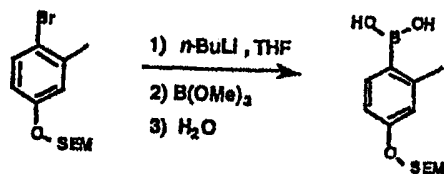
2-methyl-4-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethoxy]fenylboronová kyselina byla připravena takto:

(i)



[2-(4-brom-3-methylfenoxymethoxy)ethyl]trimethylsilan byl připraven při 86% výtěžku z 4-brom-3-methylfenolu podle postupu pro [2-(4-brom-2-methoxy-5-methylfenoxymethoxy)ethyl]-trimethylsilan. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,39 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 6,93 (d, 1H, $J = 2,7$ Hz), 6,75 (dd, 1H, $J = 8,7, 2,7$ Hz), 5,16 (s, 2H), 3,74 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 2,36 (s, 3H), 0,95 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 0,01 (s, 9H). Anal. ($\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{BrO}_2\text{Si}$) C, H. Vypočteno C, 49,21, H, 6,67. Změřeno: C, 49,33, H, 6,67.

(ii)

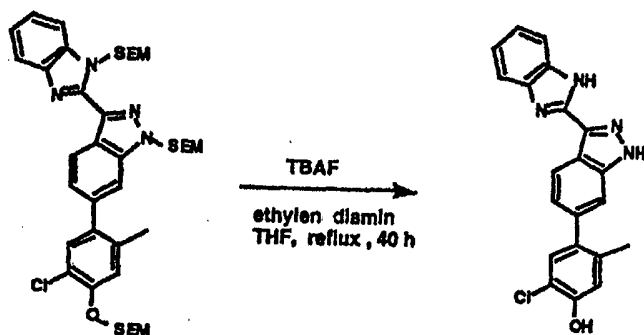


2-methyl-4-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethoxy]fenylboronová kyselina byla připravena při 52% výtěžku z [2-(4-brom-3-methylfenoxymethoxy)ethyl]trimethylsilanu podle postupu

pro 5-methoxy-2-methyl-4-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethoxy]-fenylboronovou kyselinu uvedeného výše. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,15 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 6,98-6,92 (m, 2H), 5,29 (s, 2H), 3,78 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 2,78 (s, 3H), 0,98 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 0,01 (s, 9H). Anal. ($\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{BO}_4\text{Si} - \text{H}_2\text{O}$) C, H. Vypočteno C, 59,10, H, 8,01. Změřeno: C, 59,07, H, 8,08.

Příklad 24(c)

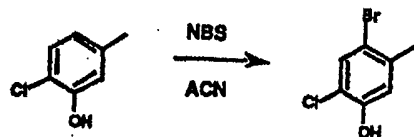
4-[3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1H-indazol-6-yl]-2-chlor-5-methylfenol



Pro přípravu sloučeniny uvedené v názvu, 5-chlor-2-methyl-4-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethoxy]fenylboronová kyselina, připravená, jak popsáno níže, byla použita namísto 5-methoxy-2-methyl-4-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethoxy]fenylboronové kyseliny z postupu popsaného v příkladu 24(a), krok (viii). ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 13,61 (s, 1H), 13,00 (š s, 1H), 10,22 (s, 1H), 8,51 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,64 (š s, 2H), 7,50 (s, 1H), 7,26-7,21 (m, 4H), 6,95 (s, 1H), 2,19 (s, 3H).

5-chlor-2-methyl-4-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethoxy]fenylboronová kyselina byla připravena takto:

(i)



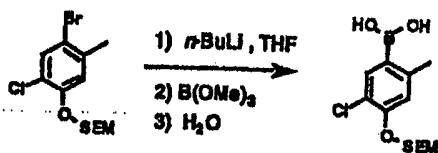
6,68 g (46,9 mmol) 2-chlor-5-methylfenolu bylo mícháno ve 200 ml acetonitrilu. Bylo přidáno 8,5 g (47,8 mmol) N-bromsukcinimidu a reakce byla míchána po dobu 45 minut. Roztok byl koncentrován ve vakuu a opět rozpuštěn ve 100 ml chloroformu. Organické vrstvy byly promyty 50 ml saturovaného NaHCO_3 a 50 ml solanky, usušeny (MgSO_4) a koncentrovány ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu (8% směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 7,98 g (77 %) 4-brom-3-chlor-5-methylfenolu jako čirého oleje. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,47 (s, 1H), 6,91 (s, 1H), 5,52 (š s, 1H), 2,32 (s, 3H). Anal. ($\text{C}_7\text{H}_6\text{ClBrO} \cdot 0,1 \text{ H}_2\text{O}$) C, H. Vypočteno C, 37,66, H, 2,80. Změřeno: C, 37,57, H, 2,82.

(ii)



[2-(4-brom-2-chlor-5-methylfenoxymethoxy)ethyl]trimethylsilan byl připraven při 83% výtěžku z 4-brom-3-chlor-5-methylfenolu podle postupu pro [2-(4-brom-2-methoxy-5-methylfenoxymethoxy)ethyl]trimethylsilan. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,51 (s, 1H), 7,09 (s, 1H), 5,26 (s, 2H), 3,79 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 2,35 (s, 3H), 0,95 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 0,02 (s, 9H). Anal. ($\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{ClBrO}_2\text{Si}$) C, H. Vypočteno C, 44,39, H, 5,73. Změřeno: C, 45,08, H, 5,91.

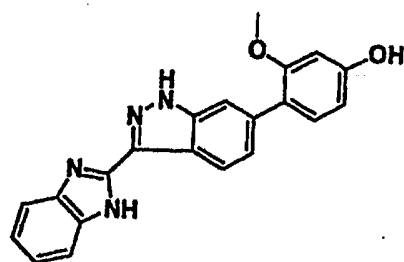
(iii)



5-chlor-2-methyl-4-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethoxy]-fenylboronová kyselina byla připravena při 54% výtěžku z [2-(4-brom-2-chlor-5-methylfenoxymethoxy)ethyl]trimethylsilanu podle postupu pro 5-methoxy-2-methyl-4-[2-(trimethylsilanyl)-ethoxymethoxy]fenylboronovou kyselinu. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,11 (s, 1H), 7,09 (s, 1H), 5,37 (s, 2H), 3,84 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 2,76 (s, 3H), 0,98 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 0,01 (s, 9H). Anal. ($\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{BrClO}_4\text{Si} - \text{H}_2\text{O}$) C, H. Vypočteno C, 52,28, H, 6,75. Změřeno: C, 51,98, H, 6,84.

Příklad 24(d)

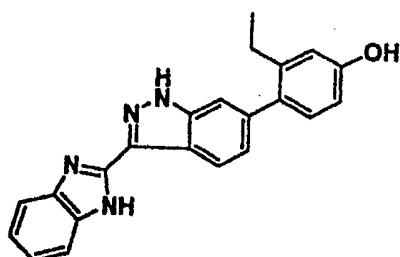
3-1H-benzimidazol-2-yl-6-(4-hydroxy-2-methoxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 24(d) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 24(a) kromě toho, že 4-brom-3-methoxyfenol, připravený, jak bylo popsáno autory Carreno et. Al., Syn. Lett., 11, 1241-42, 1997, byl použit namísto 4-brom-2-methoxy-5-methylfenolu v kroku (vi). ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1352 (s, 1H), 12,98 (s, 1H), 9,63 (s, 1H), 8,44 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,72 (d, 1H, $J = 6,9$ Hz), 7,61 (s, 1H), 7,50 (d, 1H, $J = 6,9$ Hz), 7,36 (dd, 1H, $J = 8,4, 1,5$ Hz), 7,18-7,22 (m, 3H), 6,55 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz), 6,48 (dd, 1H, $J = 8,1, 2,1$ Hz), 3,74 (s, 3H). MS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 357, změřeno 357, $[\text{M}-\text{H}]/z$ vypočteno 355, změřeno 355.

Příklad 24(e)

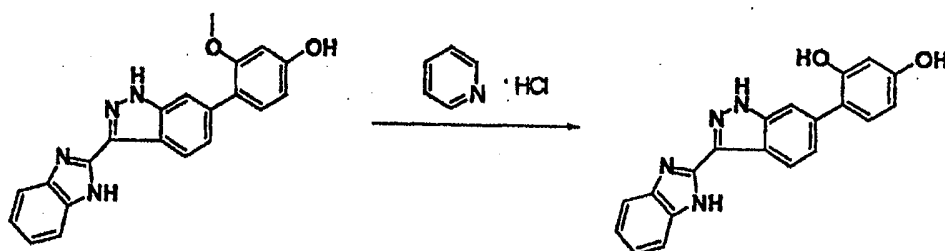
3-1H-benzimidazol-2-yl-6-(2-ethyl-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 24(e) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 24(a) kromě toho, že 4-brom-3-ethyl-fenol, připravený při 80% výtěžku podle postupu popsaného autory Carreno et. Al., Syn. Lett., 11, 1241-42, 1997, pro syntézu 4-brom-3-methylfenolu, byl použit namísto 4-brom-2-methoxy-5-methylfenolu v kroku (vi). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,66 (s, 1H), 13,02 (s, 1H), 9,43 (s, 1H), 8,49 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,72 (d, 1H, $J = 6,9$ Hz), 7,53 (d, 1H, $J = 6,9$ Hz), 7,44 (s, 1H, 7,18-7,25 (m, 3H), 7,06 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 6,75 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz), 6,66 (dd, 1H, $J = 8,1, 2,1$ Hz), 2,50 (q, 2H, $J = 7,5$ Hz), 1,04 (t, 3H, $J = 7,5$ Hz). MS (ES) $[M+H]^+/z$ vypočteno 355, změřeno 355, $[M-H]^-/z$ vypočteno 353, změřeno 353.

Příklad 24(f)

3-1H-benzimidazol-2-yl-6-(2,4-dihydroxyfenyl)-1H-indazol

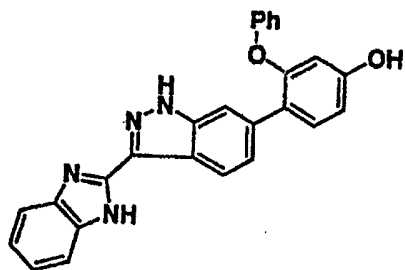


46 mg (0,13 mmol) 6-(2-methoxy-4-hydroxyfenyl)-3-1H-benzimidazol-2-yl-1H-indazolu, připraveného v příkladu 24(d),

bylo zahříváno v 0,5 g pyridiniumchloridu ve 180 °C po dobu 2 hodin. Reakce byla ponechána vychladnout a byla zastavena 15 ml saturovaného NaHCO₃ a extrahována 2 x 20 ml EtOAc. Organické vrstvy byly usušeny (Na₂SO₄) a koncentrovány ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu (60% směs THF a hexanu) poskytla 26 mg (59 %) sloučeniny uvedené v názvu jako bílé pevné látky. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 13,49 (s, 1H), 12,94 (s, 1H), 9,49 (s, 1H), 9,39 (s, 1H), 8,43 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,71 7,74 (m, 2H), 7,50 (d, 1H, J = 6,9 Hz), 7,43 (dd, 1H, J = 8,4, 1,2 Hz), 7,16–7,23 (m, 3H), 6,45 (d, 1H, J = 2,1 Hz), 6,35 (dd, 1H, J = 8,4, 2,1 Hz). MS (ES) [M+H]⁺/z vypočteno 343, změřeno 343, [M-H]⁻/z vypočteno 341, změřeno 341.

Příklad 24(g)

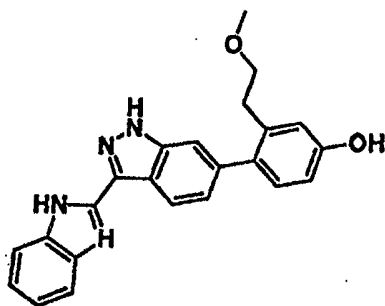
3-1H-benzimidazol-2-yl-6-(2-fenoxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 24 (g) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 24(c) kromě toho, že 3-fenoxyfenol byl použit namísto 2-chlor-5-methylfenolu v kroku (i). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 13,54 (s, 1H), 12,95 (s, 1H), 9,78 (s, 1H), 8,43 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,67–7,72 (m, 2H), 7,49 (dd, 1H, J = 6,3, 2,1 Hz), 7,43 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 7,33 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 7,17–7,22 (m, 2H), 6,96–7,07 (m, 3H), 6,72 (dd, 1H, J = 8,4, 2,1 Hz), 6,40 (d, 1H, J = 2,1 Hz). MS (ES) [M+H]⁺/z vypočteno 419, změřeno 419, [M-H]⁻/z vypočteno 417, změřeno 417.

Příklad 24(h)

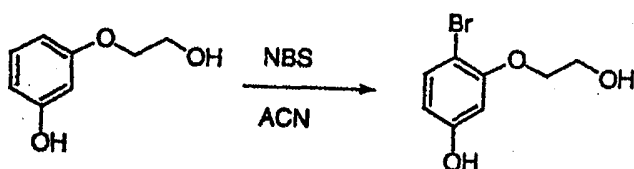
3-1H-benzimidazol-2-yl-6-(2-(2-methoxyethyl)-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 24 (h) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 24(a) kromě toho, že {2-[4-brom-3-(2-methoxyethyl)fenoxymethoxy]ethyl}trimethylsilan, připravený, jak popsáno níže, byl použit namísto [2-(4-brom-2-methoxy-5-methylfenoxymethoxy)ethyl]trimethylsilanu v kroku (vii). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,60 (s, 1H), 13,01 (s, 1H), 9,44 (s, 1H), 8,49 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,73 (š s, 1H), 7,51 (š s, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,21 (přibližně d, 3H, $J = 8,1$ Hz), 7,09 (d, H, $J = 8,1$ Hz), 6,78 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz), 6,70 (dd, 1H, $J = 8,1, 2,4$ Hz), 3,40 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz), 3,12 (s, 3H), 2,75 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz). MS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 385, změřeno 385, $[\text{M}-\text{H}]/z$ vypočteno 383, změřeno 383.

Výchozí látka byla připravena takto:

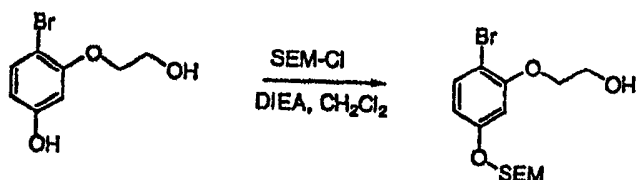
(i)



4-brom-3-(2-hydroxyethyl)fenol byl připraven při 88% výtěžku substitucí 3-(2-hydroxyethyl)fenolu v postupu popsaném v příkladu 24(c), krok (i). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9,56 (s, 1H), 7,29 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 6,74 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz), 6,55

(dd, 1H, $J = 8,7, 3,0$ Hz), 4,71 (t, 1H, $J = 5,4$ Hz), 3,52-3,59 (m, 2H), 2,73 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz).

(ii)



Příprava 2-[2-brom-5-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)-fenyl]: byl připraven při 65% výtěžku substitucí 4-brom-3-(2-hydroxyethyl)fenolu v postupu popsaném v příkladu 24(a), krok (vi). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,43 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 6,97 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz), 6,82 (dd, 1H, $J = 8,7, 3,0$ Hz), 5,19 (s, 2H), 3,88 (q, 2H, $J = 6,6$ Hz), 3,74 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 2,99 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz), 1,42 (t, 1H, $J = 6,6$ Hz), 0,94 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), -0,01 (s, 9H).

(iii)

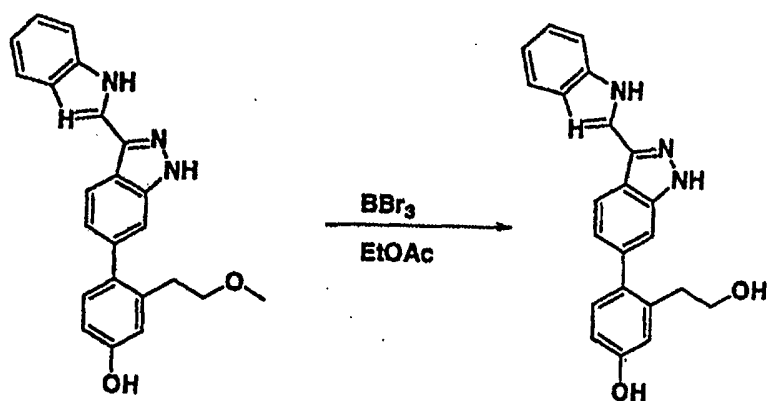


{2-[4-brom-3-(2-methoxyethyl)fenoxymethoxy]ethyl}tri-methylsilan: 1,9 g (6,0 mmol) 2-[2-brom-5-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)fenyl]ethanolu bylo přidáno k roztoku 1,35 g (24 mmol) hydroxidu draselného v 16 ml DMSO. Bylo přidáno 1,12 ml (18 mmol) jodmethanu a roztok byl míchán po dobu 16 hodin. Reakce byla naředěna 50 ml vody a extrahována 2 x 40 ml etheru. Organické vrstvy byly promyty 40 ml solanky, usušeny (Na_2SO_4) a koncentrovány ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu (10% směs etheru a hexanu).

poskytla 1,28 g {2-[4-brom-3-(2-methoxyethyl)fenoxymethoxy]-ethyl}trimethylsilanu jako čirého oleje. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,40 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 6,96 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz), 6,80 (dd, 1H, $J = 8,7, 3,0$ Hz), 5,18 (s, 2H), 3,74 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 3,60 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz), 3,37 (s, 3H), 2,98 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz), 0,95 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), -0,01 (s, 9H).

Příklad 24(i)

3-1H-benzimidazol-2-yl-6-(2-(2-hydroxyethyl)-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol

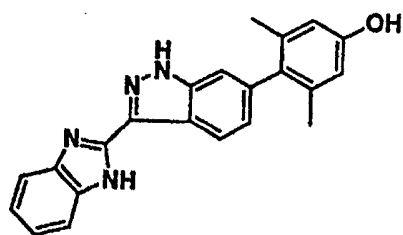


99 mg (0,26 mmol) 3-1H-benzimidazol-2-yl-6-(2-(2-methoxyethyl)-4-hydroxyfenyl)-1H-indazolu, z příkladu 24(i), bylo rozpuštěno ve 20 ml EtOAc a ochlazeno na -78°C v argonové atmosféře. Po kapkách byl přidán bromid boritý a reakce byla ponechána za míchání při zahřívání na teplotu místnosti po dobu 3 hodin. Roztok byl naředěn 60 ml EtOAc a promyt saturovaným NaHCO_3 a solankou, po 20 ml. Organické vrstvy byly usušeny (Na_2SO_4) a koncentrovány ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu (THF) poskytla 56 mg (59 %) sloučeniny uvedené v názvu jako bílé pevné látky. ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 13,60 (s, 1H), 13,01 (s, 1H), 9,41 (s, 1H), 8,49 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,71 (š s, 1H), 7,51 (š s, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,21 (přibližně d, 3H, $J = 8,1$ Hz), 7,08 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,77 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz), 6,69 (dd, 1H, $J = 8,1, 2,1$

Hz), 4,57 (š s, 1H), 3,46 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz), 2,68 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz). MS (ES) $[M+H]/z$ vypočteno 371, změřeno 371, $[M-H]/z$ vypočteno 369, změřeno 369.

Příklad 24(j)

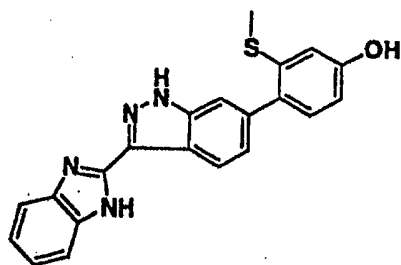
3-1H-benzimidazol-2-yl-6-(2,6-dimethyl-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 24 (j) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 24(a) kromě toho, že 4-brom-3,5-dimethylfenol byl použit namísto 4-brom-2-methoxy-5-methylfenolu v kroku (vi). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,57 (s, 1H), 12,99 (s, 1H), 9,22 (s, 1H), 8,52 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,72 (d, 1H, $J = 6,6$ Hz), 7,51 (d, 1H, $J = 6,6$ Hz), 7,31 (s, 1H), 7,16-7,25 (m, 2H), 7,02 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,55 (s, 2H), 1,93 (s, 6H). MS (ES) $[M+H]/z$ vypočteno 355, změřeno 355, $[M-H]/z$ vypočteno 353, změřeno 353.

Příklad 24(k)

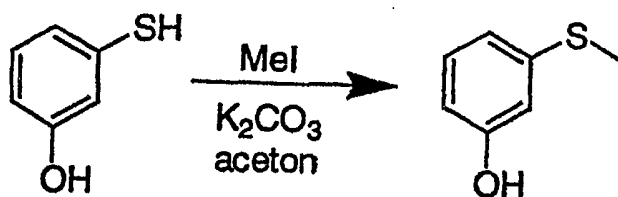
3-1H-benzimidazol-2-yl-6-(2-methylsulfanyl-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 24 (k) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 24(c) kromě toho, že 3-methylsulfanylfenol, připravený, jak popsáno níže, byl použit namísto 2-chlor-5-methylfenolu v kroku (i). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,59 (s, 1H), 12,98 (s, 1H), 9,64 (s, 1H), 8,48 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,71 (š s, 1H), 7,52 (přibližně s, 2H), 7,20–7,27 (m, 3H), 7,12 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,76 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz), 6,65 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,1$ Hz), 2,34 (s, 3H). MS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 373, změřeno 373, $[\text{M}-\text{H}]/z$ vypočteno 371, změřeno 371.

Výchozí látka byla připravena takto:

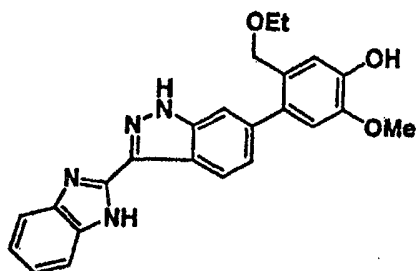
(i)



Příprava 3-methylsulfanylfenolu. 5,0 g (39,7 mmol) 3-hydroxythiofenolu a 6,03 g (43,6 mmol) uhličitanu draselného byly míchány v 80 ml acetonu při teplotě 0 °C. Po kapkách bylo přidáno 2,5 ml (40 mmol) jodmethanu a reakce byla míchána po dobu 45 minut. Roztok byl naředěn 150 ml H_2O a extrahován 2 x 100 ml EtOAc. Organické vrstvy byly promyty 100 ml solanky, usušeny (Na_2SO_4) a koncentrovány ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu (25% směs EtOAc a hexanu) poskytla 5,08 g (91 %) 3-methylsulfanylfenolu jako čirého oleje. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,15 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz), 6,82 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 6,74 (t, 1H, $J = 1,8$ Hz), 6,60 (dd, 1H, $J = 8,1, 1,8$ Hz), 4,86 (s, 1H), 2,47 (s, 3H).

Příklad 24(1)

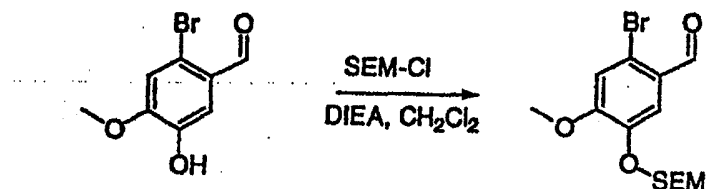
3-1H-benzimidazol-2-yl-6-(2-(ethoxymethyl)-5-methoxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 24(1) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 24(a) kromě toho, že [2-(4-brom-5-ethoxymethyl-2-methoxyfenoxymethoxy)ethyl]trimethylsilan, připravený, jak popsáno níže, byl použit namísto [2-(4-brom-2-methoxy-5-methylfenoxymethoxy)ethyl]trimethylsilanu v kroku (vii). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,63 (s, 1H), 12,99 (s, 1H), 9,15 (s, 1H), 8,50 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,73 (dd, 1H, $J = 6,6, 2,1$ Hz), 7,59 (s, 1H), 7,51 (dd, 1H, $J = 6,6, 2,1$ Hz), 7,32 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,19-7,24 (m, 2H), 6,94 (s, 1H), 6,91 (s, 1H), 4,22 (s, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,39 (q, 2H, $J = 6,9$ Hz), 1,13 (t, 3H, $J = 6,9$ Hz). MS (ES) $[M+H]^+/z$ vypočteno 415, změřeno 415.

Výchozí látka byla připravena takto:

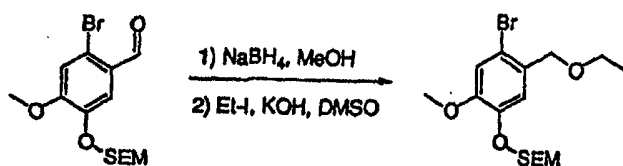
(i)



2-brom-4-methoxy-5-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)-benzaldehyd byl připraven při 79% výtěžku substitucí 4-brom-3-formyl-2-methoxyfenolu (Hazlet et. Al., J. Org. Chem., 27, 3253-55, 1962) v postupu popsáném v příkladu 24(a), krok (vi).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 10,16 (s, 1H), 7,68 (s, 1H), 7,07 (s, 1H), 5,28 (s, 2H), 3,94 (s, 3H), 3,77 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 0,94 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), -0,03 (s, 9H).

(ii)



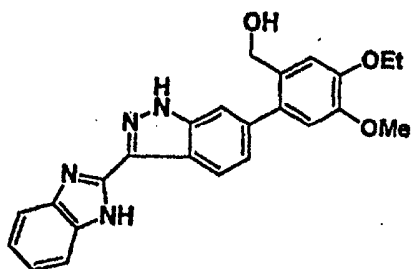
Příprava [2-(4-brom-5-ethoxymethyl-2-methoxyfenoxy-methoxy)ethyl]trimethylsilanu: 275 mg (7,2 mmol) borohydridu sodného bylo přidáno v dávkách po dobu 10 minut k roztoku 1,3 g (3,6 mmol) 2-brom-4-methoxy-5-(2-trimethylsilanyloxy-methoxy)benzaldehydu ve 20 ml MeOH při teplotě 0°C . Po 30 minutách byla reakce naředěna 40 ml H_2O a extrahována 2 x 30 ml EtOAc. Organické vrstvy byly promyty 30 ml solanky, usušeny (Na_2SO_4) a koncentrovány ve vakuu za vzniku 1,31 g [2-brom-4-methoxy-5-(2-trimethylsilanyloxy-methoxy)fenyl]methanolu jako čirého oleje. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,29 (s, 1H), 7,05 (s, 1H), 5,27 (s, 2H), 4,66 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz), 3,87 (s, 3H), 3,79 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 1,92 (t, 1H, $J = 6,6$ Hz), 0,96 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 0,01 (s, 9H).

Surový benzylalkohol byl míchán s roztokem 800 mg (14,4 mmol) hydroxidu draselného v 8 ml DMSO. Bylo přidáno 580 ml (7,2 mmol) jodethanu a reakce byla míchána po dobu 16 hodin předtím, než byla naředěna 30 ml H_2O a extrahována 2 x 30 ml etheru. Organické vrstvy byly promyty 20 ml solanky, usušeny (Na_2SO_4) a koncentrovány ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu (15% směs EtOAc a hexanu) poskytla 1,30 g (92 %) sloučeniny uvedené v názvu jako čirého oleje. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,29 (s, 1H), 7,03 (s, 1H), 5,26 (s, 2H), 4,48 (s, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,79 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 3,58 (q, 2H, $J =$

6,9 Hz), 1,26 (t, 3H, $J = 6,9$ Hz), 0,95 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), - 0,01 (s, 9H).

Příklad 24 (m)

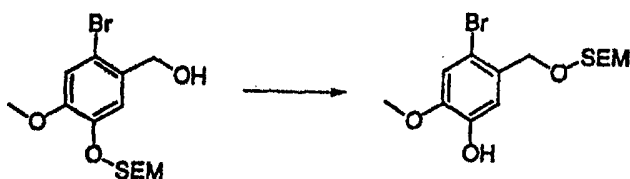
3-1H-benzimidazol-2-yl-6-(2-(hydroxymethyl)-4-ethoxy-5-methoxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 24 (m) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 24(a) kromě toho, že [2-(2-brom-5-ethoxy-4-methoxybenzyloxymethoxy)ethyl]trimethylsilan, připravený, jak popsáno níže, byl použit namísto [2-(4-brom-2-methoxy-5-methylfenoxymethoxy)ethyl]trimethylsilanu v kroku (vii). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,64 (s, 1H), 13,00 (s, 1H), 8,50 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,73 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,62 (s, 1H), 7,52 (dd, 1H, $J = 6,0, 1,8$ Hz), 7,32 (dd, 1H, $J = 8,4, 1,2$ Hz), 7,19-7,24 (m, 2H), 7,15 (s, 1H), 6,91 (s, 1H), 5,11 (t, 1H, $J = 5,1$ Hz), 4,37 (d, 2H, $J = 5,1$ Hz), 4,08 (q, 2H, $J = 6,9$ Hz), 3,80 (s, 3H), 1,37 (t, 3H, $J = 6,9$ Hz). MS (ES) $[M+H]^+/z$ vypočteno 415, změřeno 415.

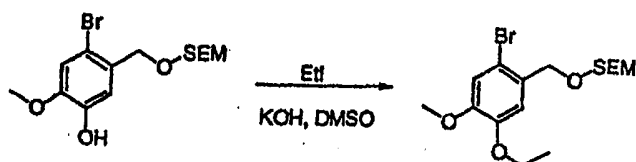
Výchozí látka byla připravena takto:

(i)



Příprava 4-brom-2-methoxy-5-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)fenolu: [2-brom-4-methoxy-5-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)fenyl]methanol, po jednom týdnu stání, kdy probíhala SEM-migrace z fenolického na benzylový alkohol za vzniku sloučeniny uvedené v názvu. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,04 (s, 1H), 7,01 (s, 1H), 5,54 (s, 1H), 4,77 (s, 2H), 4,57 (s, 2H), 3,88 (s, 3H), 3,68 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 0,97 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 0,02 (s, 9H).

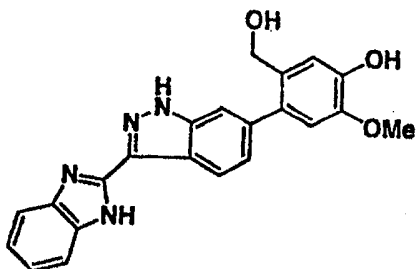
(ii)



Příprava [2-(2-brom-5-ethoxy-4-methoxybenzyloxymethoxy)-ethyl]trimethylsilanu: 1,28 g (3,53 mmol) 4-brom-2-methoxy-5-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)fenolu bylo mícháno s roztokem 790 mg (14,1 mmol) hydroxidu draselného v 8 ml DMSO. Bylo přidáno 565 ml (7,1 mmol) jodethanu a reakce byla míchána po dobu 16 hodin předtím, než byla naředěna 30 ml H_2O a extrahována 2 x 30 ml etheru. Organické vrstvy byly promyty 20 ml solanky, usušeny (Na_2SO_4) a koncentrovány ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu (15% směs EtOAc a hexanu) poskytla 1,26 g (91 %) sloučeniny uvedené v názvu jako čirého oleje. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,02 (s, 1H), 6,98 (s, 1H), 4,78 (s, 2H), 4,60 (s, 2H), 4,09 (q, 2H, $J = 6,6$ Hz), 3,86 (s, 3H), 3,69 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 1,46 (t, 3H, $J = 6,6$ Hz), 0,97 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 0,04 (s, 9H).

Příklad 24(n)

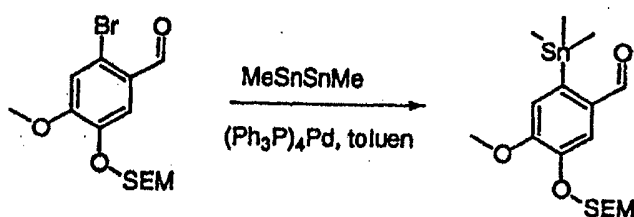
3-1H-benzimidazol-2-yl-6-(2-(hydroxymethyl)-5-methoxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 24(n) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 24(a) kromě toho, že 6-[5-methoxy-2-hydroxymethyl-4-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)fenyl]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-3-[1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-benzimidazol-2-yl]-1H-indazol, připravený, jak popsáno níže, byl použit namísto 6-[5-methoxy-2-methyl-4-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)fenyl]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-3-[1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-benzimidazol-2-yl]-1H-indazolu. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,59 (s, 1H), 12,95 (s, 1H), 9,05 (s, 1H), 8,49 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,72 (dd, 1H, $J = 6,3, 2,1$ Hz), 7,60 (s, 1H), 7,51 (dd, 1H, $J = 6,3, 2,1$ Hz), 7,31 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,20–7,24 (m, 2H), 7,02 (s, 1H), 6,87 (s, 1H), 5,02 (t, 1H, $J = 5,4$ Hz), 4,32 (d, 2H, $J = 5,4$ Hz), 3,80 (s, 3H). MS (ES) $[M+H]/z$ vypočteno 387, změřeno 387, $[M-H]/z$ vypočteno 385, změřeno 385.

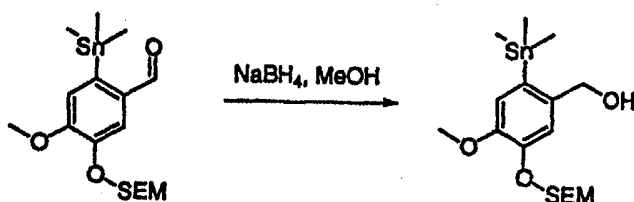
Výchozí látka byla připravena takto:

(i)



Příprava 4-methoxy-5-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)-2-trimethylstannanylbenzaldehydu: 3,36 g (9,3 mmol) 2-brom-4-methoxy-5-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)benzaldehydu a 5,0 g (15,3 mmol) hexamethyldicínu bylo mícháno v 60 ml suchého toluenu v baňce probublávané argonem. Bylo přidáno 500 mg (0,45 mmol) tetrakis(trifenylfosfin)palladia(0) a reakce byla míchána ve 100 °C po dobu 23 hodin. Reakce byla ochlazena a koncentrována ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu (5% směs EtOAc a hexanu) poskytla 2,77 g (67 %) 4-methoxy-5-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)-2-trimethylstannanylbenzaldehydu jako čirého oleje. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9,81 (dd, 1H, $J = 3,0, 0,9$ Hz), 7,66 (t, 1H, $J = 6,6$ Hz), 7,21 (t, 1H, $J = 9,0$ Hz), 5,35 (s, 2H), 3,99 (s, 3H), 3,82 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 0,25 (t, 9H, $J = 26,7$ Hz), 0,98 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), -0,01 (s, 9H).

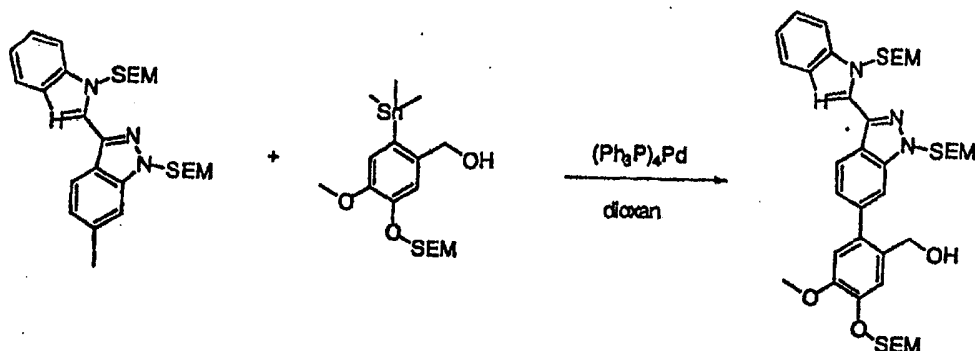
(if)



Příprava [4-methoxy-5-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)-2-trimethylstannanylfenyl]methanolu: 2,36 g (5,3 mmol) 4-methoxy-5-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)-2-trimethylstannanylbenzaldehydu bylo mícháno ve 30 ml MeOH při teplotě 0 °C. Bylo přidáno 400 mg (10,6 mmol) borohydridu sodného a reakce byla míchána po dobu 1 hodiny. Roztok byl naředěn 60 ml H_2O a extrahován 2 x 50 ml EtOAc. Organické vrstvy byly promyty 50 ml solanky, usušeny (Na_2SO_4) a koncentrovány ve vakuu za vzniku 2,16 g (91 %) [4-methoxy-5-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)-2-trimethylstannanylfenyl]methanolu jako čirého oleje. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,18 (t, 1H, $J = 6,9$ Hz), 7,03 (t, 1H, $J = 9,3$ Hz), 5,27 (s, 2H), 4,58-4,63 (m, 2H), 3,89 (s, 3H), 3,80

(t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 1,53 (t, 1H, $J = 6,0$ Hz), 0,96 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 0,31 (t, 9H, $J = 27,3$ Hz), 0,01 (s, 9H).

(iii)

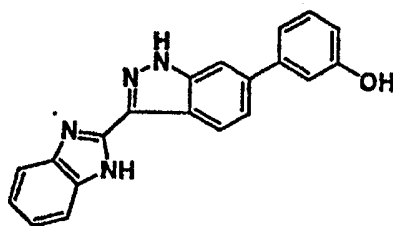


Příprava 6-[5-methoxy-2-hydroxymethyl-4-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)fenyl]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-3-[1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-benzimidazol-2-yl]-1H-indazolu: 300 mg (0,48 mmol) 6-jod-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-3-{1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-benzimidazol-2-yl]-1H-indazolu [příklad 24(a), krok (v)] a 282 mg (0,63 mmol) [4-methoxy-5-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)-2-trimethylstannanylfenyl]methanolu byly míchány v 8 ml dioxanu v argonové atmosféře v 98 °C po dobu 16 hodin. Reakce byla ponechána vychladnout a byla naředěna EtOAc. Organické vrstvy byly promyty saturovaným NaHCO_3 a solankou, usušeny (Na_2SO_4) a koncentrovány ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu (20% směs EtOAc a hexanu) poskytla 224 mg (60 %) 6-[5-methoxy-2-hydroxymethyl-4-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)fenyl]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-3-[1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-Benzimidazol-2-yl]-1H-indazolu, jako světle žlutého oleje. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,70 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,89–7,92 (m, 1H), 7,63–7,66 (m, 2H), 7,34–7,41 (m, 4H), 6,91 (s, 1H), 6,29 (s, 2H), 5,83 (s, 2H), 5,36 (s, 2H), 4,55 (s, 2H), 3,78–3,92

(m, 5H), 3,59-3,70 (m, 4H), 0,83-1,04 (m, 6H), 0,03 (s, 9H), -0,04 (s, 9H), -0,13 (s, 9 Hz).

Příklad 24(o)

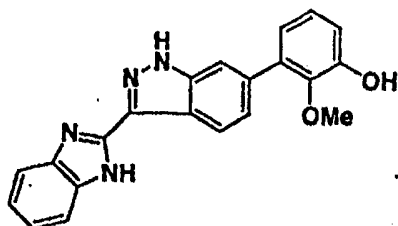
3-1H-benzimidazol-2-yl-6-(3-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 24(o) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 24(f) kromě toho, že 6-(3-methoxyfenyl)-3-1H-benzimidazol-2-yl-1H-indazol, připravený podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 24(a) kromě toho, že 3-methoxyfenylboronová kyselina byla použita namísto 5-methoxy-2-methyl-4-[2-(trimethylsilanyl)-ethoxymethoxy]fenylboronové kyseliny v kroku (viii), byl použit namísto 6-(2-methoxy-4-hydroxyfenyl)-3-1H-benzimidazol-2-yl-1H-indazolu. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,67 (s, 1H), 13,00 (s, 1H), 9,58 (s, 1H), 8,55 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,71-7,75 (m, 2H), 7,49-7,57 (m, 2H), 7,30 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz), 7,12-7,24 (m, 4H), 6,80 (dd, 1H, $J = 8,1, 1,5$ Hz). MS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 327, změřeno 327, $[\text{M}-\text{H}]/z$ vypočteno 325, změřeno 325.

Příklad 24(p)

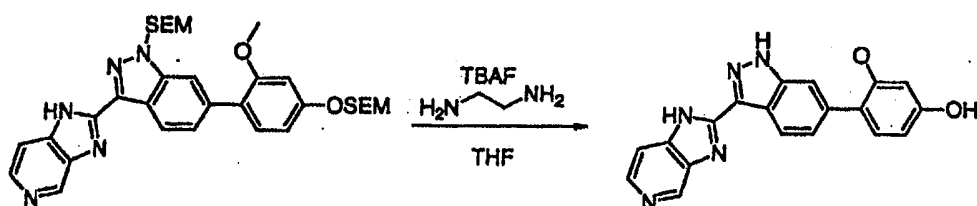
3-1H-benzimidazol-2-yl-6-(2-methoxy-3-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 24 (p) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 24(a) kromě toho, že 3-brom-2-methoxyfenol, připravený, jak bylo popsáno autory Aristoff et al., Tet. Lett., 25, 3955-58, 1984 byl použit namísto 4-brom-2-methoxy-5-methylfenolu v kroku (vi). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,60 (s, 1H), 12,97 (s, 1H), 9,37 (s, 1H), 8,52 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,69-7,74 (m, 2H), 7,51 (dd, 1H, $J = 7,8, 1,8$ Hz), 7,43 (dd, 1H, $J = 8,4, 1,2$ Hz), 7,19-7,24 (m, 2H), 7,02 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz), 6,85-6,93 (m, 2H), 3,50 (s, 3H). MS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 357, změřeno 355, $[\text{M}-\text{H}]/z$ vypočteno 357, změřeno 355.

Příklad 25(a)

3-(3H-imidazol[4,5-c]pyridin-2-yl)-6-(4-hydroxy-2-methoxyfenyl)-1H-indazol

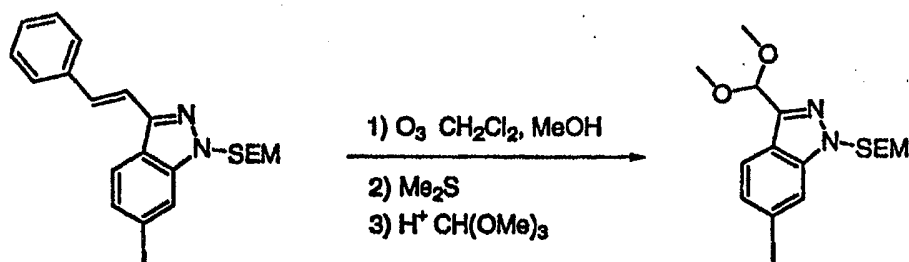


Roztok 68 mg (0,11 mmol) 6-[5-methoxy-2-methyl-4-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)fenyl]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-3-[3-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-3H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl]-1H-indazolu v 1,2 ml (1,2 mmol) TBAF (1M v THF) se 150 ml (2,2 mmol) ethylendiaminu byl míchán v 68 °C po dobu 48 hodin. Roztok byl koncentrován ve vakuu a purifikován chromatografií na silikagelu (2:1 směs EtOH a

EtOAc). Precipitace z acetonitrilu poskytla 21 mg (53 %) 3-(3H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-6-(4-hydroxy-2-methoxyfenyl)-1H-indazolu, jako bílé pevné látky. ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13,70 (s, 1H), 13,49 (š s, 1H), 9,62 (s, 1H), 9,01 (š s, 1H), 8,43 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 8,34 (d, 1H, $J = 5,7$ Hz), 7,64 (s, 1H), 7,57 (š s, 1H), 7,39 (dd, 1H, $J = 8,7, 1,5$ Hz), 7,21 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 6,55 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz), 6,49 (dd, 1H, $J = 8,1, 2,1$ Hz), 3,74 (s, 3H). MS (ES) $[m+H]^+/z$ vypočteno 358, změřeno 358, $[M-H]^-/z$ vypočteno 356, změřeno 356.

Meziprodukty byly připraveny takto:

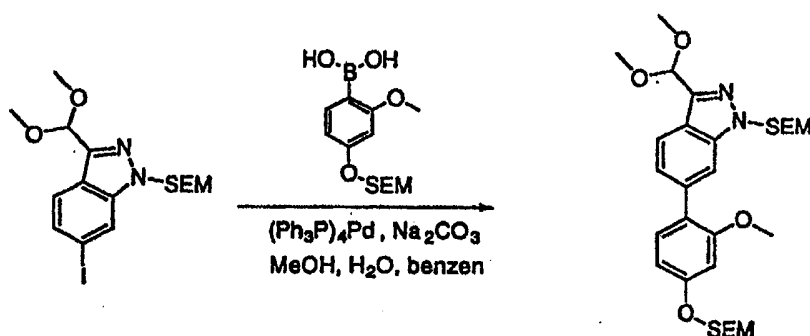
(i)



3-(1,1-dimethoxymethyl)-6-jod-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol. Roztok 1,28 g (2,69 mmol) 6-jod-3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu [příklad 14, krok (i)] ve 40 ml CH_2Cl_2 /40 ml MeOH byl míchán v -78°C . Reakce byla podrobena působení ozonu, dokud trvalo modré zbarvení, a pak byla probublána argonem. Byly přidány 4 ml methylsulfidu a reakce byla míchána 4 hodiny při zahřívání na teplotu místnosti. Koncentrace ve vakuu poskytla surovou směs acetalu a aldehydu, která byla konvertována kompletně na acetal mícháním v 10 ml trimethylorthoformiátu s 0,8 g kyselé iontoměničové pryskyřice Amberlyst 15 (vlhké) po dobu 1 hodiny. Pryskyřice byla odstraněna filtrací a roztok byl koncentrován ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu poskytla 1,11 g (92 %) 3-(1,1-dimethoxymethyl)-6-jod-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu jako čirého oleje. ^1H

NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,98 (s, 1H), 7,68 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,48 (dd, 1H, J = 8,4, 1,2 Hz), 5,77 (s, 1H), 5,69 (s, 2H), 3,53 (t, 2H, J = 8,4 Hz), 3,43 (s, 6H), 0,88 (t, 2H, J = 8,4 Hz), -0,06 (s, 9H).

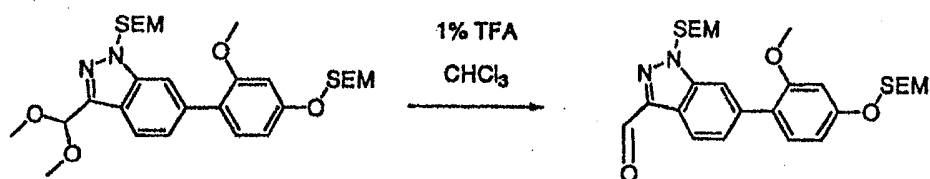
(ii)



3-(1,1-dimethoxymethyl)-6-[2-methoxy-4-(2-trimethylsilyl)ethoxymethoxy]fenyl]-1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-1H-indazol. 1,06 g (2,37 mmol) 3-(1,1-dimethoxymethyl)-6-jod-1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-1H-indazolu, 0,99 g (3,32 mmol) 2-methoxy-4-(trimethylsilyl)ethoxymethoxyfenylboronové kyseliny a 352 mg (1,4 mmol) uhličitanu sodného byly míchány ve směsi 15 ml benzenu, 3 ml MeOH a 1 ml vody v baňce probublávané argonem. Bylo přidáno 220 mg (0,19 mmol) tetrakis(trifenylfosfin)palladia(0) a reakce byla míchána ve varu pod zpětným chladičem po dobu 16 hodin. Reakce byla ponechána vychladnout a byla naředěna 70 ml etheru. Organické vrstvy byly promyty 30 ml H_2O a 30 ml solanky, usušeny (Na_2SO_4) a koncentrovány ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu (15% směs EtOAc a hexanu) poskytla 1,12 g (82 %) 3-(1,1-dimethoxymethyl)-6-[2-methoxy-4-(2-trimethylsilyl)ethoxymethoxy]fenyl]-1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl-1H-indazolu, jako světle žlutého oleje. ^1H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,91 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,64 (s, 1H), 7,37 (dd, 1H, J = 8,4, 1,2 Hz), 7,29 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 6,71-6,77

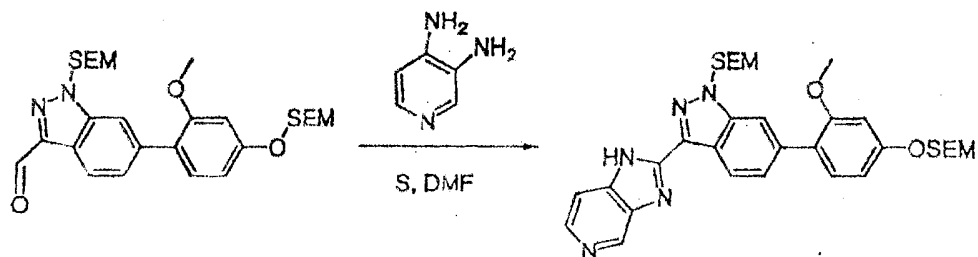
(m, 2H), 5,82 (s, 1H), 5,75 (s, 2H), 5,28 (s, 2H), 3,77-3,83 (m, 5H), 3,57 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 3,46 (s, 6H), 1,00 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 0,88 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 0,03 (s, 9H), -0,05 (s, 9H).

(iii)



6-[2-methoxy-4-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)fenyl]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd.
 1,1 g (1,92 mmol) 3-(1,1-dimethoxymethyl)-6-[2-methoxy-4-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)fenyl]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu bylo mícháno v 20 ml 1% směsi TFA a CH_2Cl_2 po dobu 1 hodiny při teplotě místnosti. Koncentrace ve vakuu poskytla 1,01 g (100%) 6-[2-methoxy-4-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)fenyl]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehydu jako čirého oleje, ^1H NMR (3 MHz, CDCl_3) δ 10,27 (s, 1H), 8,28 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,73 (s, 1H), 7,55 (dd, 1H, $J = 8,4, 1,2$ Hz), 7,29 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,72-6,79 (m, 2H), 5,82 (s, 2H), 5,28 (s, 2H), 3,78-3,84 (m, 5H), 3,61 (t, 2H, $J = 8,1$ Hz), 0,89-1,03 (m, 4H), 0,03 (s, 9H), -0,05 (s, 9H).

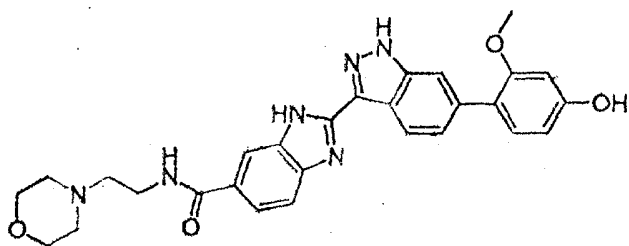
(iv)



6-[5-methoxy-2-methyl-4-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)-fenyl]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-3-[3-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-3H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl]-1H-indazol. 320 mg (0,61 mmol) 6-[2-methoxy-4-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)fenyl]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehydu, 68 mg (0,62 mmol) 3,4-diaminopyridinu a 23 mg (0,73 mmol) síry bylo vloženo do 2 ml suchého DMF a mícháno v 90 °C po dobu 16 hodin v argonové atmosféře. Reakce byla ponechána vychladnout a byla naředěna 20 ml EtOAc. Organické vrstvy byly promyty saturovaným NaHCO₃ a solankou, po 15 ml, usušeny (Na₂SO₄) a koncentrovány ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu (75% až 100% směs EtOAc a hexanu) poskytla 78 mg (21 %) 6-[5-methoxy-2-methyl-4-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)fenyl]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-3-[3-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-3H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl]-1H-indazolu, jako bílé pevné látky. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 10,69 (š s, 1H), 9,21 (s, 1H), 8,63 (dd, 1H, J = 8,4, 0,3 Hz), 8,50 (d, 1H, J = 5,4 Hz), 7,73 (s, 1H), 7,47 (š s, 1H), 7,57 (dd, 1H, J = 8,7, 1,2 Hz), 7,33 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 6,74-6,80 (m, 2H), 5,80 (s, 2H), 5,29 (s, 2H), 3,78-3,85 (m, 5H), 3,63 (t, 2H, J = 8,1 Hz), 0,89-1,04 (m, 4H), 0,04 (s, 9H), -0,06 (s, 9H).

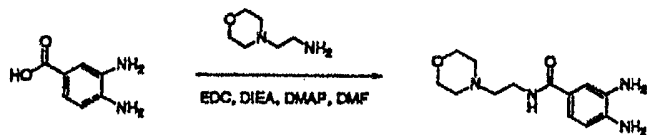
Příklad 25(b)

3-[6-(2-morfolin-4-ylethylkarbamoyl)-1H-benzimidazol-2-yl]-6-(2-methoxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 25(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 25(a) kromě toho, že 3,4-diamino-N-(2-morfolin-4-ylethyl)benzamid připravený, jak popsáno níže, byl použit namísto 3,4-diaminopyridinu v kroku (iv). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,61 (s, 0,5H), 13,59 (s, 0,5H), 13,22 (s, 0,5H), 13,18 (s, 0,5H), 9,59 (s, 1H), 8,35-8,46 (m, 2H), 8,27 (s, 0,5H), 8,02 (s, 0,5H), 7,71-7,79 (m, 1,5H), 7,63 (s, 1H), 7,53 (d, 0,5H, $J = 8,7$ Hz), 7,38 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 7,21 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 6,55 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz), 6,49 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,1$ Hz), 3,75 (s, 3H), 3,58 (t, 4H, $J = 4,5$ Hz), 3,42 (q, 2H, $J = 6,0$ Hz), 2,43-2,51 (m, 6H). MS (ES) $[M+H]/z$ vypočteno 513, změřeno 513, $[m-H]/z$ vypočteno 511, změřeno 511.

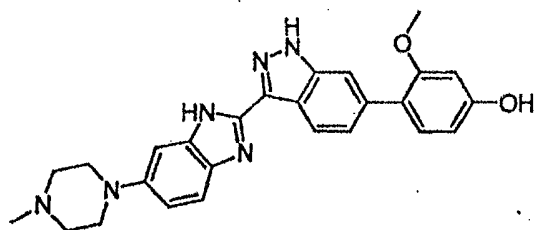
3,4-diamino-N-(2-morfolin-4-ylethyl)benzamid byl připraven takto:



3,4-diamino-N-(2-morfolin-4-ylethyl)benzamid. 5 g (32,9 mmol) 3,4-diaminobenzoové kyseliny, 5,2 ml (39,4 mmol) 4-(2-aminoethyl)morfolinu, 9,2 ml (66 mmol) triethylaminu a DMAP 0,40 g (3,3 mmol) bylo vloženo do 80 ml suchého DMF při teplotě 0 °C. Bylo přidáno 9,45 g (49,3 mmol) EDC a reakce byla míchána po dobu 24 hodin při teplotě místnosti. Koncentrace ve vakuu a purifikace chromatografií na silikagelu (10% směs MeOH a CH_2Cl_2 s 0,2% NH_4OH) poskytla 2,6 g (31 %) 3,4-diamino-N-(2-morfolin-4-ylethyl)benzamidu jako světle hnědé pevné látky. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 7,72 (t, 1H, $J = 5,4$ Hz), 7,02 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz), 6,92 (dd, 1H, $J = 8,1, 1,3$ Hz), 6,46 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 4,89 (š s, 2H), 4,51 (š s, 2H), 3,55 (t, 4H, $J = 4,8$ Hz), 3,29 (q, 2H, $J = 7,2$ Hz), 2,36-2,43 (m, 6H).

Příklad 25(c)

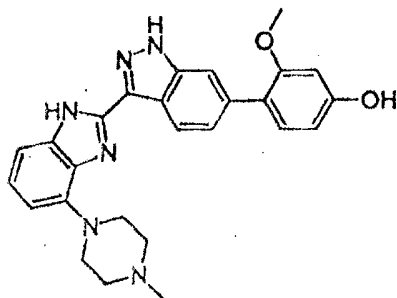
3-[6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-benzimidazol-2-yl]-6-(2-methoxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 25(c) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 25(a), kromě toho, že 4-(4-methylpiperazin-1-yl)benzen-1,2-diamin (Harapanhalli et al., J. Med. Chem., 39, 4804-09, 1996) byl použit namísto 3,4-diaminopyridinu v kroku (iv). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,51 (s, 0,33H), 13,38 (s, 0,67H), 12,66 (s, 0,33H), 12,59 (s, 0,67H), 9,58 (s, 1H), 8,42 (d, 0,33H, $J = 8,4$ Hz), 8,41 (d, 0,67H, $J = 8,4$ Hz), 7,59 (s, 1H), 7,55 (d, 0,67H, $J = 8,7$ Hz), 7,31-7,37 (m, 1,33H), 7,20 (přibližně d, 1,33H, $J = 8,4$ Hz), 6,92-7,01 (m, 1,67H), 6,55 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz), 6,48 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,1$ Hz), 3,74 (s, 3H), 3,12 (š s, 4H), 2,50 (š s, 4H), 2,22 (s, 3H). MS (ES) $[M+H]^+/z$ vypočteno 455, změřeno 455, $[M-H]^-/z$ vypočteno 453, změřeno 453.

Příklad 25(d)

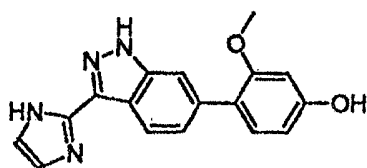
3-[4-(4-methylpiperazin-1-yl)-1H-benzimidazol-2-yl]-6-(2-methoxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 25 (d) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 25(a), kromě toho, že 3-(4-methylpiperazin-1-yl)benzen-1,2-diamin (Harapanhalli et al., J. Med. Chem., 39, 4804-09, 1996), analogický k 4-isomeru, byl použit namísto 3,4-diaminopyridinu v kroku (iv). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,41 (š s, 1H), 12,79 (š s, 1H), 9,60 (š s, 1H), 8,37 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,60 (s, 1H), 7,36 (dd, 1H, $J = 8,4, 1,2$ Hz), 7,22 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,03-7,07 (m, 2H), 6,46-6,56 (m, 3H), 3,75 (s, 3H), 3,62 (š s, 4H), 2,62 (š s, 4H), 2,28 (s, 3H). MS (ES) $[M+H]^+/z$ vypočteno 455, změřeno 455, $[M-H]^+/z$ vypočteno 453, změřeno 453.

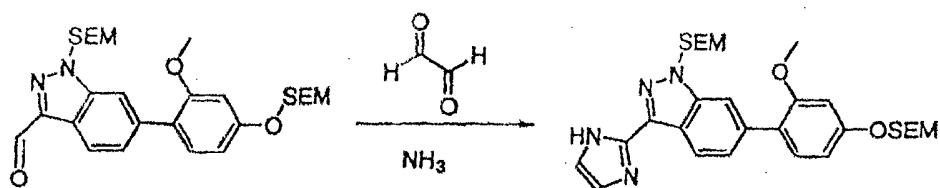
Příklad 25(e)

3-imidazol-2-yl-6-(2-methoxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 25(e) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 25(a), kromě toho, že 6-[5-methoxy-2-methyl-4-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)-fenyl]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-3-imidazol-2-yl-1H-indazol byl použit namísto 6-[5-methoxy-2-methyl-4-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)fenyl]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-3-[3-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-3H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl]-1H-indazolu. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,10 (s, 1H), 12,59 (s, 1H), 9,56 (s, 1H), 8,27 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,53 (s, 1H), 7,25 (dd, 1H, $J = 8,4, 1,2$ Hz), 7,13-7,20 (m, 3H), 6,54 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz), 6,47 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,1$ Hz), 3,73 (s, 3H). MS (ES) $[M+H]^+/z$ vypočteno 307, změřeno 307.

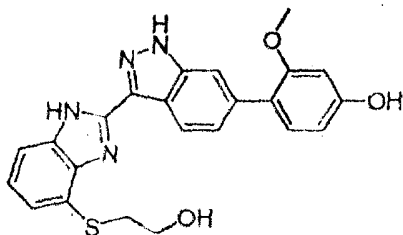
Výchozí látka byla připravena takto:



0,4 ml (3,5 mmol) 40% (hmotnostních) glyoxalu v H₂O bylo přidáno po kapkách k roztoku 420 mg (0,8 mmol) 6-[2-methoxy-4-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)fenyl]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehydu, z příkladu 25(a) krok (iii) a 0,6 ml 28% vodného čpavku v 8 ml THF/8 ml MeOH a roztok byl míchán při teplotě místnosti po dobu 16 hodin. Reakce byla koncentrována ve vakuu a rozpuštěna v 50 ml CHCl₃. Organické vrstvy byly promyty H₂O a solankou, po 25 ml, usušeny (Na₂SO₄) a koncentrovány ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu (40% směs EtOAc a hexanu) poskytla 120 mg (27 %) 6-[5-methoxy-2-methyl-4-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)fenyl]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-3-imidazol-2-yl-1H-indazolu, jako čirého oleje. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 10,03 (s, 1H), 8,48 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,65 (s, 1H), 7,46 (dd, 1H, J = 8,4, 1,5 Hz), 7,29-7,48 (m, 2H), 7,13 (d, 1H, J = 1,5 Hz), 6,73-6,78 (m, 2H), 5,73 (s, 2H), 5,28 (s, 2H), 3,78-3,86 (m, 5H), 3,60 (t, 2H, J = 8,4 Hz), 0,88-1,03 (m, 4H), 0,03 (s, 9H), -0,05 (s, 9H).

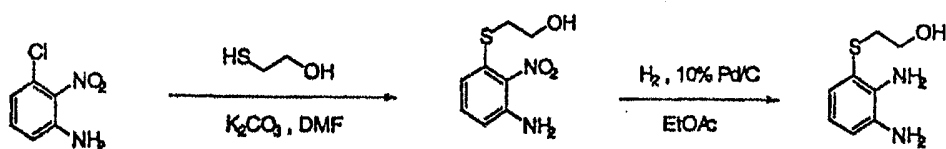
Příklad 25(f)

3-[4-(2-hydroxyethylsulfanyl)-1H-benzimidazol-2-yl]-6-(2-methoxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 25 (f) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 25(a) kromě toho, že 2-(2,3-diaminofenylsulfanyl)ethanol byl použit namísto 3,4-diaminopyridinu v kroku (iv). ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13,51 (s, 1H), 13,02 (s, 1H), 9,59 (s, 1H), 8,45 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,61 (s, 1H), 7,32-7,40 (m, 2H), 7,11-7,23 (m, 3H), 6,55 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz), 6,48 (dd, 1H, $J = 8,1, 2,4$ Hz), 4,96 (š s, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,65 (š s, 2H), 3,33 (t, 2H, $J = 6,9$ Hz). MS (ES) $[\text{m}+\text{Na}]/z$ vypočteno 455, změřeno 455, $[\text{M}-\text{H}]/z$ vypočteno 431, změřeno 431.

Výchozí látka byla připravena takto:



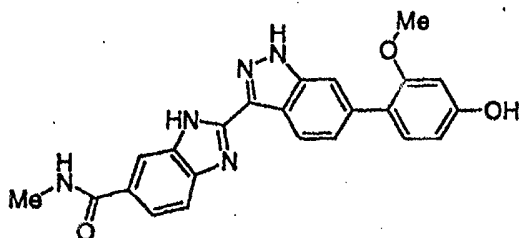
2-(3-amino-2-nitrofenylsulfanyl)ethanol. 1,12 g (6,5 mmol) 3-chlor-2-nitroanilinu, 0,60 ml (8,6 mmol) 2-merkapt ethanolu a 0,99 g (7,1 mmol) uhličitanu draselného bylo vloženo do 15 ml suchého DMF a mícháno ve 130 °C po dobu 4 hodin. Roztok byl ponechán vychladnout a byl koncentrován ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu (70% směs EtOAc a hexanu) poskytla 1,29 g (93 %) 2-(3-amino-2-nitrofenylsulfanyl)-ethanolu jako jasně červené pevné látky. ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 7,20 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz), 6,80 (s, 2H), 6,73 (dd, 1H, $J = 8,4, 0,9$ Hz), 6,63 (dd, 1H, $J = 7,8, 1,2$ Hz), 4,92 (t, 1H, $J = 6,0$ Hz), 3,58 (q, 2H, $J = 6,0$ Hz), 2,98 (t, 2H, $J = 6,0$ Hz).

2-(2,3-diaminofenylsulfanyl)ethanol. 1,02 g (4,8 mmol) 2-(3-amino-2-nitrofenylsulfanyl)ethanolu bylo redukováno hydrogenací s použitím 310.26 kPa (45 psi) H_2 se 180 mg 10% Pd/C ve 25 ml EtOAc po dobu 6 hodin. Po filtraci přes celit bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu. Purifikace chromatografií na silikagelu (EtOAc) poskytla 762 mg (87 %) 2-

(2,3-diaminofenylsulfanyl)ethanolu jako světle žluté pevné látky. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6,98 (dd, 1H, $J = 7,5, 1,5$ Hz), 6,60-6,72 (m, 2H), 3,65 (t, 2H, $J = 5,7$ Hz), 3,55 (š s, 5H), 2,91 (t, 2H, $J = 5,7$ Hz).

Příklad 25(g)

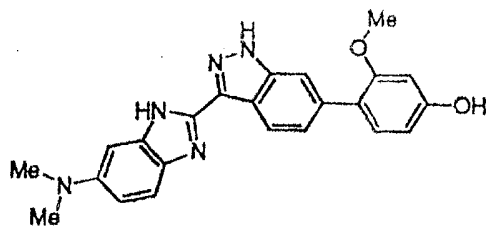
3-(5-methylkarbamoyl-1H-benzimidazol-2-yl)-6-(2-methoxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 25(g) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 25(a), kromě toho, že 3,4-diamino-N-methylbenzamid (Kumar, et. Al. J. Med. Chem., 27, 1083-89 1984) byl použit namísto 3,4-diaminopyridinu v kroku (iv). ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13,59 (s, 0,5H), 13,55 (s, 0,5H), 13,21 (s, 0,5H), 13,14 (s, 0,5H), 9,60 (s, 1H), 8,38-9,46 (m, 2H), 8,26 (s, 0,5H), 8,03 (s, 0,5H), 7,71-7,79 (m, 1,5H), 7,63 (s, 1H), 7,52 (d, 0,5H, $J = 8,4$ Hz), 7,35-7,40 (m, 1H), 7,21 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz), 6,55 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz), 6,49 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,4$ Hz), 3,75 (s, 3H), 2,82 (d, 1,5H, $J = 0,5$ Hz), 2,81 (d, 1,5H, $J = 1,5$ Hz). MS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 414, změřeno 414, $[\text{M}-\text{H}]/z$ vypočteno 412, změřeno 412.

Příklad 25(h)

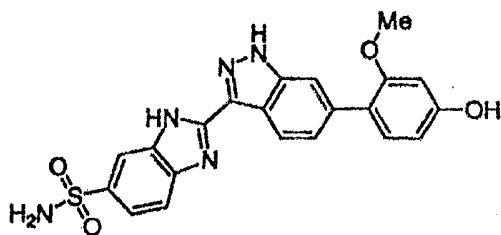
3-(5-dimethylamino-1H-benzimidazol-2-yl)-6-(2-methoxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 25 (h) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 25(a), kromě toho, že 3,4-diamino-N,N-dimethylanilin (Cazaux, et. Al., Can. J. Chem., 71, 1236-46 1993) byl použit namísto 3,4-diaminopyridinu v kroku (iv). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,36 (s, 1H), 12,51 (š s, 1, 9,58 (s, 1H), 8,42 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,59 (s, 1H), 7,49 (š s, 1H), 7,33 (dd, 1H, $J = 8,4, 1,2$ Hz), 7,20 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 6,87 (br d, 2H, $J = 8,1$ Hz), 6,55 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz), 6,48 (dd, 1H, $J = 8,1, 2,1$ Hz), 3,73 (s, 3H), 2,92 (s, 6H). MS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 400, změřeno 400, $[\text{M}-\text{H}]/z$ vypočteno 398, změřeno 398.

Příklad 25(i)

3-(5-aminosulfonyl-1H-benzimidazol-2-yl)-6-(2-methoxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol

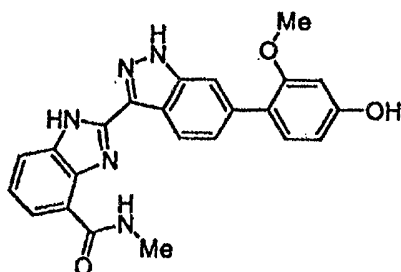


Sloučenina z příkladu 25(i) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 25(a), kromě toho, že 3,4-diaminobenzensulfonamid byl použit namísto 3,4-diaminopyridinu v kroku (iv). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,67 (s, 0,5H), 13,64 (s, 0,5H), 13,39 (s, 0,5H), 13,35 (s, 0,5H), 9,60 (s, 1H), 8,43 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 8,18 (d, 0,5H, $J = 1,5$ Hz),

7,99 (d, 0,5H, $J = 1,5$ Hz), 7,86 (d, 0,5H, $J = 8,4$ Hz), 7,62-7,72 (m, 2,5 Hz), 7,29 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,20-7,28 (m, 3H), 6,55 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz), 6,49 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,1$ Hz), 3,75 (s, 3H). MS (ES) $[M+H]^+/z$ vypočteno 436, změřeno 436, $[M-H]^-/z$ vypočteno 434, změřeno 434.

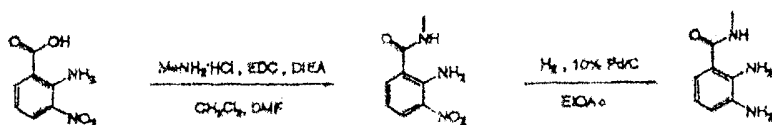
Příklad 25(j)

3-(4-methylkarbamoyl-1H-benzimidazol-2-yl)-6-(2-methoxy-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 25(i) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 25(a), 2,3-diamino-N-methylbenzamid byl použit namísto 3,4-diaminopyridinu v kroku (iv). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,71 (s, 1H), 13,46 (s, 1H), 9,85 (br d, 1H, $J = 4,8$ Hz), 9,61 (s, 1H), 8,38 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,89 (dd, 1H, $J = 7,5, 1,2$ Hz), 7,66-7,72 (m, 2H), 7,47 (dd, 1H, $J = 8,4, 1,2$ Hz), 7,36 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz), 7,23 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 6,56 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz), 6,50 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,4$ Hz), 3,76 (s, 3H), 3,10 (d, 3H, $J = 1,8$ Hz). MS (ES) $[m+H]^+/z$ vypočteno 414, změřeno 414, $[M-H]^-/z$ vypočteno 412, změřeno 412.

2,3-diamino-N-methylbenzamid byl připraven takto:

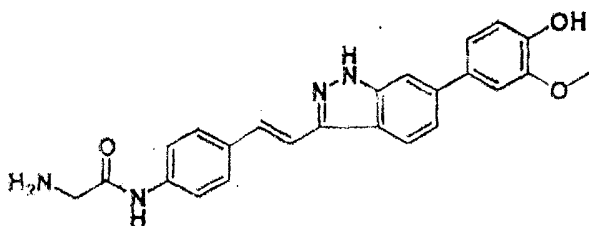


2-amino-N-methyl-3-nitro-benzamid. 1,8 g (9,9 mmol)
 2-amino-3-nitrobenzoové kyseliny a 1,33 g (19,8 mmol)
 methylaminu hydrochloridu bylo mícháno ve 30 ml suchého
 CH_2Cl_2 /5 ml DMF při teplotě 0 °C. Bylo přidáno 2,83 g (14,8
 mmol) EDC a 4,92 ml (27,7 mmol) DIEA a roztok byl míchán 3
 hodiny při zahřívání na teplotu místnosti. Reakce byla
 koncentrována ve vakuu a purifikována chromatografií na
 silikagelu (8% směs MeOH a CHCl_3) za vzniku 1,42 g (74 %) 2-amino-N-methyl-3-nitrobenzamidů jako žluté pevné látky. ^1H
 NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 8,58 (š s, 1H, 8,23 (š s, 2H), 8,15
 (dd, 1H, $J = 8,1, 1,8$ Hz), 7,82 (dd, 1H, $J = 8,1, 1,8$ Hz),
 6,68 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz), 2,76 (d, 3H, $J = 4,5$ Hz).

2,3-diamino-N-methylbenzamid. 1,4 g (7,2 mmol) 2-amino-
 N-methyl-3-nitrobenzamid bylo redukováno hydrogenací
 s použitím 344.74 kPa (50 psi) H_2 s 250 mg 10% Pd-C ve 25 ml
 EtOAc po dobu 5 hodin. Po filtraci přes celit bylo
 rozpouštědlo odstraněno ve vakuu. Purifikace chromatografií na
 silikagelu (10% směs MeOH a CHCl_3) poskytla 1,08 mg (91 %) 2,3-
 diamino-N-methylbenzamid jako světle žluté pevné látky. ^1H NMR
 (300 MHz, CDCl_3) δ 6,87 (dd, 1H, $J = 7,8, 1,5$ Hz), 6,76 (dd,
 1H, $J = 7,8, 1,5$ Hz), 6,59 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz), 6,14 (š s,
 1H), 4,28 (š s, 4H), 2,95 (d, 3H, $J = 5,1$ Hz).

Příklad 26

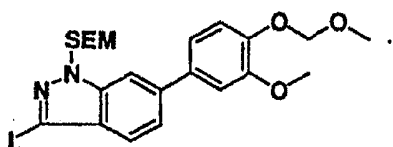
6-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)-3-[E-2-(4-glycylaminofenyl)
 ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 26 byla připravena z výchozí látky popsané níže podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 1(a): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,29 (d, 1H), 7,80 (m, 5H), 7,58 (m, 3H), 7,38 (s, H), 7,27 (d, 1H), 7,01 (d, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,42 (s, 2H), LCMS (100% oblast) R_t = 3,44 minuty (poz) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 415,1, změřeno 415,2.

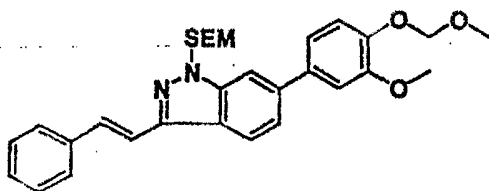
Výchozí látka byla připravena takto:

(i)



3-jod-6-{3-methoxy-4-methoxymethoxyfenyl)-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol byl připraven ze sloučeniny připravené v příkladu 1(a), krok (v), podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 10, krok (ii): R_f sm 0,11, p 0,43 (směs ethylacetátu a hexanu 3:7), ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,71 (s, 1H), 7,55 (m, 2H), 7,33 (m, 1H), 7,20 (m, 2H), 5,82 (s, 2H), 5,33 (s, 2H), 4,02 (s, 3H), 3,64 (t, 2H), 3,59 (s, 3H), 0,95 (t, 2H), -,03 (s, 9H).

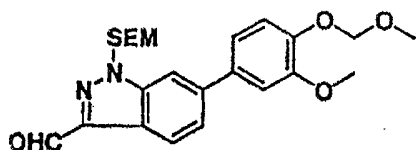
(ii)



3-styryl-6-(3-methoxy-4-methoxymethoxyfenyl)-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazol byl připraven podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 11, krok (iii): R_f sm 0,41, p 0,35 (směs ethylacetátu a hexanu 2:8), ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,12 (d, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,62 (m, 2H),

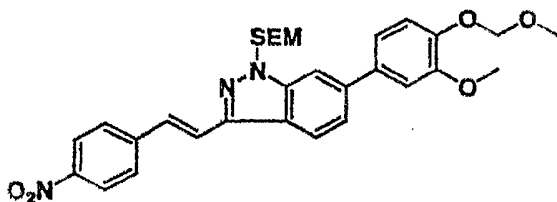
7,51 (m, 2H), 7,46 (m, 2H), 7,38 (m, 1H), 7,30 (m, 4H), 5,85 (s, 2H), 5,38 (s, 2H), 4,03 (s, 3H), 3,70 (t, 2H), 3,62 (s, 3H), 0,98 (t, 2H), -0,02 (s, 9H).

(iii)



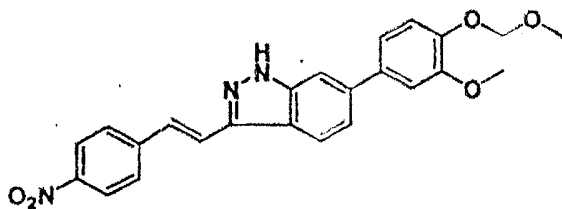
3-karboxaldehyd-6-(3-methoxy-4-methoxymethoxyfenyl)-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazol byl připraven podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 33(a), krok (i): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 10,33 (s, 1H), 8,34 (d, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,65 (d, 1H), 7,25 (m, 3H), 5,90 (s, 2H), 5,36 (s, 2H), 4,02 (s, 3H), 3,67 (t, 2H), 3,51 (s, 3H), 0,98 (t, 2H), -0,02 (s, 9H).

(iv)



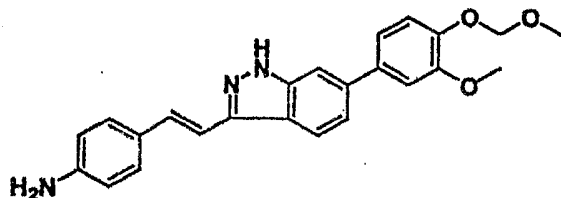
3-(4-nitrostyryl)-6-(3-methoxy-4-methoxymethoxyfenyl)-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazol byl připraven podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 33(a), krok (ii), kromě toho, že 4-nitrobenzyltrifenylfosfoniumbromid a lithiumhexamethyldisilazid byly použity namísto 2-pikolyltrifenylfosfoniumchloridu/hydridu draselného: LCMS (100% oblast) R_t = 6,89 minuty (poz) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 562,4, změřeno 562,4.

(v)



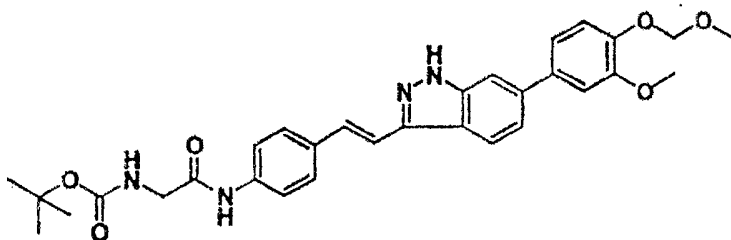
3-(4-nitrostyryl)-6-(3-methoxy-4-methoxymethoxyfenyl)-1H-indazol byl připraven podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 11: FTIR (tenký film) 3335, 3178, 2954, 1592, 1512, 1338, 1257, 1136, 1257, 1136, 987 cm^{-1} , ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,22 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 8,02 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,70 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 7,58 (m, 3H), 7,45 (dd, 1H, $J = 1,3, 8,5$ Hz), 7,20 (m, 4H), 7,26 (s, 2H), 3,95 (s, 3H), 3,53 (s, 3H), LCMS (100% oblast) $R_t = 5,13$ minuty (poz) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 432,1, změřeno 432,1.

(vi)



3-(4-aminostyryl)-6-(3-methoxy-4-methoxymethoxyfenyl)-1H-indazol byl připraven podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 11, krok (iv): R_f sm 0,39, p 0,26 (směs ethylacetátu a hexanu 6:4), FTIR (tenký film) 3366, 3210, 2954, 1608, 1517, 1465, 1412, 1259, 1157, 1077, 989, 912 cm^{-1} , ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,11 (d, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,50-7,15 (m, 8H), 6,71 (d, 2H), 5,36 (s, 2H), 3,97 (s, 3H), 3,61 (s, 3H), LCMS (100% oblast) $R_t = 4,40$ minuty (poz) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 402,2, změřeno 402,2.

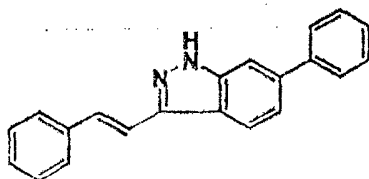
(vii)



90 mg (0,224 mmol) 3-(4-aminostyryl)-6-(3-methoxy-4-methoxymethoxyphenyl)-1H-indazolu bylo rozpuštěno ve 2 ml dichlormethanu a bylo podrobeno působení 196 mg (1,12 mmol, 5 ekv.) Boc-glycinu, 82 mg (3 ekv.) DMAP a 426 mg (5 ekv.) HATU. Směs byla ponechána za míchání po dobu 30 minut. Směs byla rozdělena mezi ethylacetát a vodu. Organická látka byla koncentrována, nabrána do 5 ml methanolu a byla podrobena působení 100 mg uhličitanu draselného. Směs byla zahřívána na 50 °C po dobu 3 dnů. Výsledná směs byla opět rozdělena mezi ethylacetát a vodu. Organická látka byla koncentrována a purifikována na silikagelu, 109 mg (66 %): R_f sm 0,32, p 0,46 (směs ethylacetátu a hexanu 6:4), ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,18 (š s, 1H), 8,03 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 7,56 (m, 5H), 7,40 (m, 3H), 7,20 (m, 3H), 5,29 (s, 2H), 5,20 (š s, 1H), 3,98 (s, 3H), 3,96 (d, 2H), 3,54 (s, 3H), 1,48 (s, 9H).

Příklad 27(a)

6-fenyl-3-E-styryl-1H-indazol

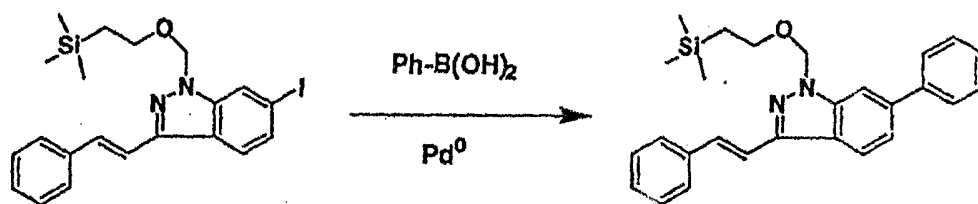


345 mg (0,81 mmol) 6-fenyl-3-styryl-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu bylo podrobeno působení 16 ml (16 mmol) roztok TBAF, 1M roztok v THF, a 0,53 ml (8,1

mmol) ethylendiaminu a zahříváno v 70 °C po dobu 2 hodin. Roztok byl pak nalit do 200 ml solanky a extrahován 3 x 30 ml ethylacetátu. Organická vrstva byla usušena nad MgSO_4 a koncentrována při sníženém tlaku. Purifikace chromatografií na silikagelu poskytla 80 mg (34 %) 6-fenyl-3-E-styryl-1H-indazolu jako bílé pevné látky: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,10 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), HRMS (FAB) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 297,1392, změřeno 297,1393. Anal. výpočet: C (85,10), H (5,44), N (9,45). Změřeno: C (85,10), H (5,46), N (9,43).

Výchozí látka byla připravena takto:

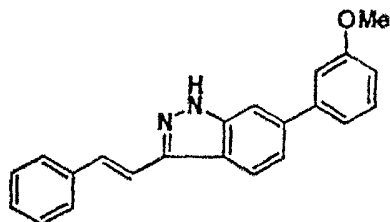
(i)



Roztok 476 mg (1,0 mmol) 6-jod-3-styryl-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu, z příkladu 14 krok (i), ve 3 ml dioxanu (odplyněného sonikací a probubláváním argonem), 23 mg (0,05 mmol) $\text{Pd(PPh}_3)_4$, 302 mg (2,5 mmol) fenyloboronové kyseliny a 1,25 ml 2M vodného roztoku Na_2CO_3 (odplyněného jak uvedeno výše) byl zahříván v 90 °C po dobu 2 hodin. Roztok pak byl naředěn 100 ml ethylacetátu a promyt 2 x 20 ml solanky. Organická vrstva byla usušena nad MgSO_4 a koncentrována při sníženém tlaku. Purifikace chromatografií na silikagelu poskytla 345 mg (81 %) 6-fenyl-3-styryl-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu jako hnědého oleje. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,09 (dd, 1H, $J = 8,5, 0,7$ Hz), 7,75 (s, 1H), 7,70 (d, 1H, $J = 7,0$ Hz), 7,64-7,58 (m, 2H), 7,56-7,51 (m, 2H), 7,50-7,45 (m, 2H), 7,45-7,36 (m, 4H), 7,34-7,27 (m, 1H), 5,80 (s, 2H), 3,73 (t, 2H, $J = 8,3$ Hz), 1,12 (t, 2H, $J = 8,3$ Hz).

Příklad 27(b)

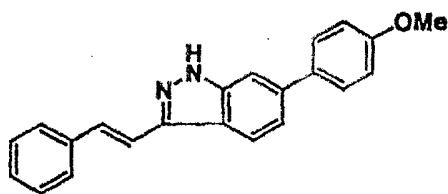
6-(3-methoxyfenyl)-3-E-styryl-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 27 (b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 27(a) kromě toho, že 3-methoxyfenylboronová kyselina byla použita namísto fenylboronové kyseliny v kroku (i). ^1H NMR (300 MHz, MeOH-d_4) δ 8,16 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,70 (s, 1H), 7,67-7,61 (m, 2H), 7,60-7,43 (m, 3H), 7,43-7,33 (m, 3H), 7,32-7,21 (m, 3H), 6,99-6,92 (m, 1H), 3,88 (s, 3H). HRMS (FAB) $[\text{M}+\text{Na}]/z$ vypočteno 349,1317, změřeno 349,1342. Analyzováno s 0,1 H_2O , vypočteno: C (80,50), H (5,59), N (8,55). Změřeno: C (80,44.), H (5,49), N (8,55).

Příklad 27(c)

6-(4 methoxyfenyl)-3-E-styryl-1H-indazol

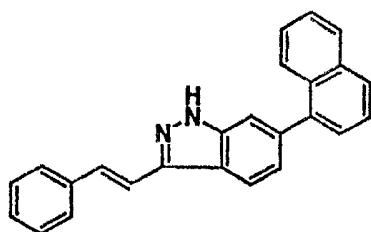


Sloučenina z příkladu 27 (b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 27(a) kromě toho, že 4-methoxyfenylboronová kyselina byla použita namísto fenylboronové kyseliny v kroku (i). ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13,20 (s, 1H), 8,23 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,76-7,64 (m, 5H), 7,54 (s, 1H), 7,50-7,37 (m, 3H), 7,33-7,25 (m, 1H), 7,07 (d,

2H , $J = 8,8 \text{ Hz}$), $3,82 \text{ (s, 3H)}$ HRMS (FAB) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno $327,1497$, změřeno $327,1502$. Anal. výpočet: C (80,96), H (5,56), N (8,58). Změřeno: C (80,71), H (5,42), N (8,47).

Příklad 27(d)

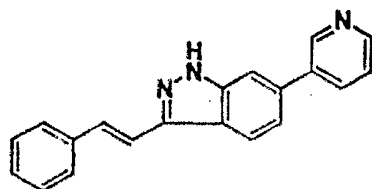
6-naft-1-yl-3-E-styryl-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 27 (d) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 27(a) kromě toho, že 1-naftalenboronová kyselina byla použita namísto fenyloboronové kyseliny v kroku (i). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10,11 (s, 1H), 8,45 (d, 1H, $J = 8,41$), 7,97-7,87 (m, 3H), 7,66-7,37 (m, 13H), 7,35-7,28 (m, 1H). HRMS (FAB) $[\text{M}+\text{Na}]/z$ vypočteno $369,1368$, změřeno $369,1359$. Anal. výpočet: C (86,68), H (5,32), N (8,19). Změřeno: C (86,52), H (5,32), N (8,19).

Příklad 27(e)

6-pyridin-3-yl-3-E-styryl-1H-indazol

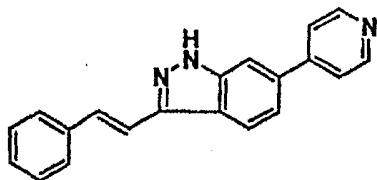


Sloučenina z příkladu 27(e) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 27(a) kromě toho, že 3-pyridinboronová kyselina byla použita namísto fenyloboronové kyseliny v kroku (i). ^1H NMR (300 MHz, MeOH- d_4) δ 8,97 (s, 1H),

8,63 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz), 8,30 (d, 1H, $H = 8,5$ Hz), 8,27 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 7,86 (s, 1H), 7,72 (d, 2H, $J = 7,5$ Hz), 7,69–7,56 (m, 4H), 7,54–7,42 (m, 2H), 7,40–7,32 (m, 1H). HRMS (FAB) $[M+H]^+/z$ vypočteno 298,1344, změřeno 298,1356. Analyzováno s 0,25 H₂O, vypočteno: C (79,58), H (5,18), N (13,92). Změřeno: C (79,53), H (5,16), N (13,80).

Příklad 27(f)

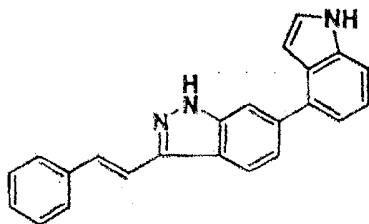
6-pyridin-4-yl-3-E-styryl-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 27(f) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 27(a) kromě toho, že 4-pyridinboronová kyselina byla použita namísto fenyloboronové kyseliny v kroku (i). ¹H NMR (300 MHz, MeOH-d₄) δ 8,69 (š s, 2H), 8,30 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,96 (s, 1H), 7,87 (d, 2H, $H = 5,6$ Hz), 7,75–7,68 (m, 3H), 7,68–7,50 (m, 2H), 7,50–7,42 (m, 2H), 7,40–7,31 (m, 1H). HRMS (FAB) $[M+H]^+/z$ vypočteno 298,1344, změřeno 298,1357. Analyzováno s 0,3 H₂O, vypočteno: C (79,34), H (5,19), N (13,88). Změřeno: C (79,14), H (5,08), N (13,84).

Příklad 27(g)

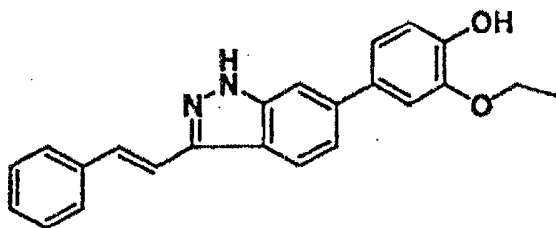
6-indol-4-yl-3-E-styryl-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 27(g) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 27(a) kromě toho, že 4-indolboronová kyselina byla použita namísto fenyloboronové kyseliny v kroku (i). ^1H NMR (300 MHz, MeOH-d_4) δ 8,25 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,85 (s, 1H), 7,75–7,67 (m, 3H), 7,67–7,52 (m, 2H), 7,52–7,42 (m, 3H), 7,39–7,22 (m, 4H), 6,72 (d, 1H, $J = 3,2$ Hz). HRMS (FAB) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 336,1501, změřeno 336,1506. Analyzováno s 0,3 H_2O , vypočteno: C (78,97), H (5,36), N (12,01). Změřeno: C (78,95), H (5,20), N (12,03).

Příklad 27(h)

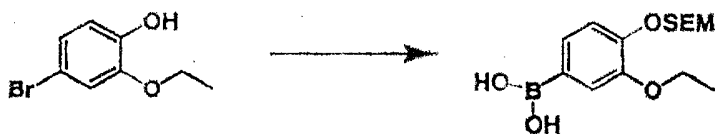
6-[3-ethoxy-4-hydroxyfenyl]-3-E-styryl-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 27(h) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 27(a) kromě toho, že 3-ethoxy-4-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)benzenboronová kyselina byla použita namísto fenyloboronové kyseliny v kroku (i). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,10 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 7,74 (s, 1H), 7,74–7,16 (m, 10H), 7,07 (d, 1H, $J = 8,15$ Hz), 4,27 (q, 2H, $J = 14,0$ Hz), 1,54 (t, 3H, $J = 14,0$ Hz). HRMS (FAB) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 357,1603, změřeno 357,1611. Analyzováno s 0,2 H_2O , vypočteno: C (76,73), H (5,71), N (7,78). Změřeno: C (76,72), H (5,91), N (7,63).

Výchozí látka byla připravena takto:

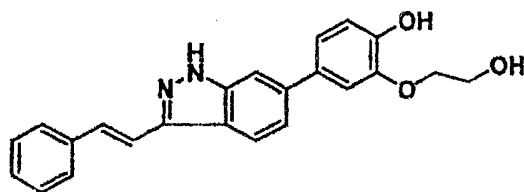
(i)



4-brom-2-ethoxy-fenol (Smith et al., Soc. Pl, 1877-78, 1992) byl konvertován na 3-ethoxy-4-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)benzenboronovou kyselinu podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 24(a) kroky (vi)-(vii). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,82 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,72 (s, 1H), 7,31 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 5,37 (s, 2H), 4,29 (q, 2H, $J = 14,0$ Hz), 3,87 (t, 2H, $J = 16,8$ Hz), 1,54 (t, 2H, $J = 14,0$ Hz), 0,99 (t, 2H, $J = 16,8$ Hz), 0,03 (s, 9H).

Příklad 27(i)

6-[3-(2-hydroxyethoxy)-4-hydroxyfenyl]-3-E-styryl-1H-indazol

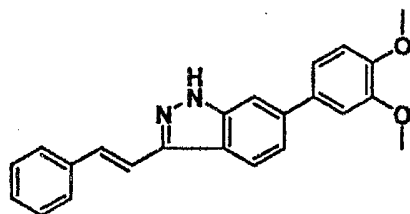


Sloučenina z příkladu 27(i) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 27(a) kromě toho, že 3-[2-(trimethylsilanylethoxymethoxy)ethoxy]-4-(2-trimethylsilanylethoxymethoxy)benzenboronová kyselina, připravená z 2-(2-hydroxyethoxy)fenolu (Yamaguchi et al., Bull. Chem. Soc. Jpn., 61, 2047-54, 1988) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 24(c), kroky (i)-(iii), byla použita namísto fenyloboronové kyseliny v kroku (i). ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,17 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 7,73-7,17 (m, 11H), 6,92 (d, 1H, $J = 3,2$ Hz), 4,13 (t, 2H, $J = 9,7$ Hz), 3,8 (t, 2H, $J = 9,7$ Hz). HRMS (FAB) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 373,1552, změřeno 373,1563. Analyzováno s 0,05 trifluoroctovou kyselinou,

vypočteno: C (73,37), H (5,35), N (7,41). Změřeno: C (73,11), H (5,33), N (7,39).

Příklad 27(j)

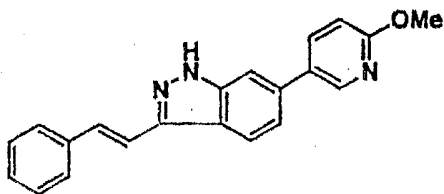
6-(3,4-dimethoxyfenyl)-3-E-styryl-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 27(j) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 27(a) kromě toho, že 3,4-dimethoxyfenylboronová kyselina byla použita namísto fenylboronové kyseliny v kroku (i). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8,01 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 7,51-7,05 (m, 11H), 6,86 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 3,58 (s, 3H), 3,65 (s, 3H). HRMS (FAB) $[M+H]^+/z$ vypočteno 357,1598, změřeno 357,1508. Analyzováno s 0,2 H_2O , vypočteno: C (76,73), H (5,71), N (7,78). Změřeno: C (76,45), H (5,70), N (7,68).

Příklad 27(k)

6-(2-methoxypyridin-5-yl)-3-E-styryl-1H-indazol

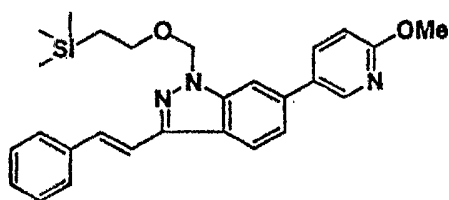


6-(2-methoxypyridin-5-yl)-3-((E)styryl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol byl konvertován na 6-(2-methoxypyridin-5-yl)-3-E-styryl-1H-indazol podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 27(a). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ

8,53 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz), 8,15 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz), 7,97 (dd, 1H, $J = 2,6, 8,6$ Hz), 7,79 (s, 1H), 7,74-7,34 (m, 8H), 6,94 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz). HRMS (FAB) $[M+H]^+/z$ vypočteno 328,1450, změřeno 328,1462. Anal. výpočet: C (77,04), H (5,23), N (12,83). Změřeno: C (77,00), H (5,28), N (12,65).

Výchozí látka byla připravena takto:

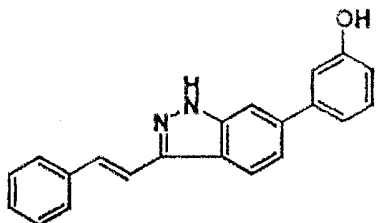
(i)



Roztok 2,00 g (6,10 mmol) 5-brom-2-methoxypyridinu, 1,15 g (6,10 mmol) hexamethyldicínu a 0,28 g (0,24 mmol) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ v 10 ml odplyněného dioxanu byl zahříván k varu pod zpětným chladičem po dobu 16 hodin. 2,90 g (6,10 mmol) 6-jod-3-((E)styryl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu bylo přidáno k výše uvedené směsi, následováno 0,35 g (0,31 mmol) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$. Reakční směs byla zahřívána k varu pod zpětným chladičem po dobu 16 hodin. Směs pak byla naředěna 150 ml ethylacetátu a promyta 30 ml solanky. Organické vrstvy byly usušeny nad MgSO_4 , a pak koncentrovány při sníženém tlaku. Purifikace chromatografií na silikagelu poskytla 1,12 g (40 %) 6-(2-methoxypyridin-5-yl)-3-((E)styryl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu jako žluté pevné látky. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,51 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz), 8,50 (d, 1H, $J = 9,1$ Hz), 7,93 (dd, 1H, $J = 2,5, 8,6$ Hz), 7,69 (s, 1H), 7,69-7,28 (m, 8H), 6,89 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz), 5,83 (s, 2H), 4,03 (s, 3H), 3,64 (t, 2H, $J = 8,3$ Hz), 0,93 (t, 2H, $J = 8,3$ Hz), -0,03 (s, 9H).

Příklad 28(a)

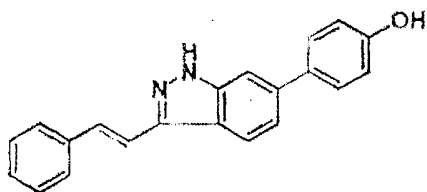
6-(3-hydroxyfenyl)-3-E-styryl-1H-indazol



Roztok 100 mg (,3 mmol) 6-(3-methoxyfenyl)-3-E-styryl-1H-indazolu, z příkladu 27(b), byl ochlazen na -78°C a podroben působení 1,8 ml (1,8 mmol) BBr_3 (1M roztok v CH_2Cl_2). Výsledný roztok byl udržován v -78°C po dobu 15 minut, pak byl zahřát na 0°C a udržován 3 hodiny. Pak bylo přidáno 10 ml roztoku saturovaného vodného hydrouhličitanu sodného, následováno 50 ml ethylacetátu. Organická vrstva byla promyta 20 ml solanky, a pak koncentrována při sníženém tlaku. Purifikace chromatografií na silikagelu poskytla 55 mg (59 %) 6-(3-hydroxyfenyl)-3-E-styryl-1H-indazolu jako bílé pevné látky. ^1H NMR (300 MHz, $\text{MeOH}-d_4$) δ 8,16 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,71-7,62 (m, 3H), 7,61-7,44 (m, 3H), 7,43-7,35 (m, 2H), 7,33-7,25 (m, 2H), 7,20-7,10 (m, 2H), 6,85-6,79 (m, 1H), δ 13,14 (s, 1H), 9,60 (s, 1H), 8,20 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,73 (d, 2H, $J = 7,3$), 7,64-7,52 (m, 5H), 7,47-7,37 (m, 3H), 7,33-7,25 (m, 1H), 6,89 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz).

Příklad 28(b)

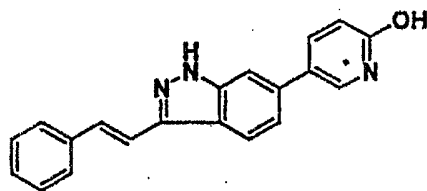
6-(4-hydroxyfenyl)-3-E-styryl-1H-indazol



6-(4-methoxyfenyl)-3-E-styryl-1H-indazol, z příkladu 27(c), byl konvertován na 6-(4-hydroxyfenyl)-3-E-styryl-1H-indazol podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 28(a). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,14 (s, 1H), 9,60 (s, 1H), 8,20 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,73 (d, 2H, $J = 7,3$ Hz), 7,64-7,52 (m, 5H), 7,47-7,37 (m, 3H), 7,33-7,25 (m, 1H), 6,89 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz). HRMS (FAB) $[\text{M}+\text{Na}]/z$ vypočteno 313,1341, změřeno 313,1347. Analyzováno s 0,5 H_2O , vypočteno: C (78,48), H (5,33), N (8,72). Změřeno: C (78,35), H (5,26), N (8,49).

Příklad 28(c)

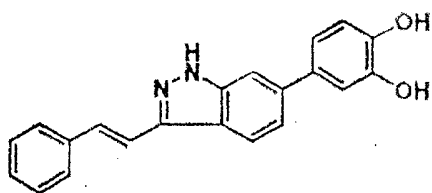
6-(2-hydroxypyridin-5-yl)-3-E-styryl-1H-indazol



6-(2-methoxypyridin-5-yl)-3-E-styryl-1H-indazol, z příkladu 27(k), byl konvertován na 6-(2-hydroxypyridin-5-yl)-3-E-styryl-1H-indazol podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 28(a). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8,22 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,96 (dd, 1H, $J = 2,6, 9,65$ Hz), 7,81 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 7,74-7,30 (m, 9H), 6,50 (d, 2H, $J = 9,4$ Hz). HRMS (FAB) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 314,1293, změřeno 314,1280. Analyzováno s 0,1 trifluoroctovou kyselinou, vypočteno: C (72,69), H (4,86), N (12,59). Změřeno: C (72,77), H (4,81), N (12,65).

Příklad 28(d)

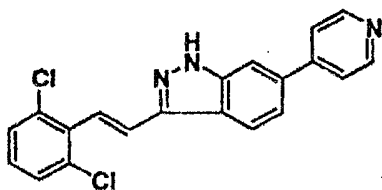
6-(3,4-dihydroxyfenyl)-3-E-styryl-1H-indazol



6-(3,4-dimethoxyfenyl)-3-E-styryl-1H-indazol, z příkladu 27(j), byl konvertován na 6-(3,4-dihydroxyfenyl)-3-E-styryl-1H-indazol podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 28(a). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 9,09 (š s, 1H), 9,07 (š s, 1H), 8,20 (d, 1H, $J = 8,5$), 7,73 (d, 2H, $J = 7,5$ Hz), 7,56 (d, 2H, $J = 10,1$ Hz), 7,53 (s, 1H), 7,43-7,29 (m, 4H), 7,11 (s, 1H), 7,04 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz), 6,86 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz). HRMS (FAB) $[M+H]^+/z$ vypočteno 329,1290, změřeno 329,1274. Analyzováno s 1,0 H_2O , vypočteno: C (66,79), H (4,73), N (7,15). Změřeno: C (66,54), H (4,56), N (7,36).

Příklad 29(a)

6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(2,6-dichlorfenyl)ethenyl]-1H-indazol

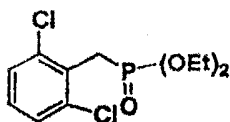


6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(2,6-dichlorfenyl)ethenyl]-1-(2-trimethylsilanyloxyethyl)-1H-indazol byl konvertován na 6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(2,6-dichlorfenyl)ethenyl]-1H-indazol podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 27(a). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 13,55 (s, 1H), 8,68 (dd, 2H, $J = 4,6, 1,6$ Hz), 8,21 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,96 (s, 1H), 7,81 (dd, 2H, $J = 4,5, 1,6$ Hz), 7,66 (dd, 1H, $J_1 = 8,5, 1,4$ Hz), 7,53 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz), 7,51 (s, 2H), 7,39-7,32 (m, 1H). MS (FAB) $[M+H]^+/z$ vypočteno 366, změřeno 366. Analyzováno s 0,7 H_2O , vypočteno: C

(63,40), H (3,83), N (11,09). Změřeno: C (63,63), H (3,75), N (10,83).

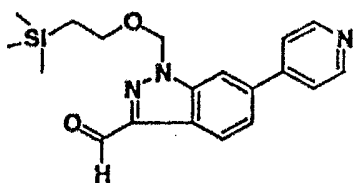
Výchozí látka byla připravena takto:

(i)



1,20 g (5 mmol) 2,6-dichlorobenzylbromidu bylo smícháno s 1,66 g (10 mmol) triethylfosfitu a zahříváno v 150 °C po dobu 2 hodin. Výsledná směs pak byla destilována ve 160 °C při sníženém tlaku 1,33 kPa (10 mm Hg), aby se odstranil nadbytek triethylfosforitanu. Bylo získáno 1,46 g (100 %) diethylesteru (2,6-dichlorobenzyl)fosfonové kyseliny jako bezbarvé kapaliny. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,33–7,28 (m, 2H), 7,15–7,07 (m, 1H), 4,14–4,02 (m, 4H), 3,60 (d, 2H, $J = 22,4$ Hz), 1,27 (t, 6H, $J = 7,0$ Hz).

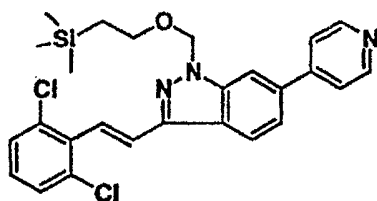
(ii)



Ozon byl probubláván přes roztok 2,13 g (5,0 mmol) 6-pyrid-4-yl-3-E-styryl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu ve 25 ml THF a 25 ml MeOH v -78 °C po dobu 15 minut. Přes roztok pak byl probubláván argon po dobu 10 minut v -78 °C, pak bylo přidáno 1,46 ml (20 mmol) dimethylsulfidu. Roztok byl ponechán ohřát se na teplotu místnosti a udržován po dobu 2 hodin. Roztok byl nalit do 300 ml solanky, a pak extrahován 3 x 100 ml ethylacetátu. Organické vrstvy byly usušeny nad MgSO_4 , a pak evaporovány při sníženém tlaku.

Purifikace chromatografií na silikagelu poskytla 2,2 g (75 %) 6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehydu jako bílé pevné látky. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 10,39 (s, 1H), 8,75 (d, 2H, $J = 1,6$ Hz), 8,45 (d, 1H, $J = 2,8$ Hz), 7,91 (s, 1H), 7,75-7,66 (m, 3H), 5,90 (s, 2H), 3,63 (t, 2H, $J = 2,7$ Hz), 0,93 (t, 2H, $J = 2,8$ Hz), 0,00 (s, 9H).

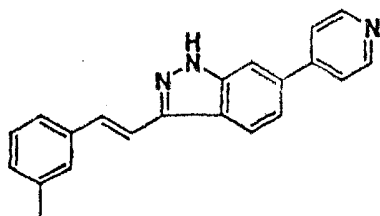
(iii)



Roztok 582 mg (2,0 mmol) diethylesteru (2,6-dichlorbenzyl)fosfinové kyseliny v 15 ml DMF byl ochlazen na 0 °C a podroben působení 160 mg (4,0 mmol) NaH (60% v minerálním oleji). Výsledný roztok byl udržován při teplotě 0 °C po dobu 30 minut, a pak byl podroben působení 353 mg (1,0 mmol) 6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehydu. Výsledný roztok byl ponechán ohřát se na teplotu místnosti po dobu 1 hodiny, a pak byl udržován při teplotě místnosti 2 hodiny. Roztok byl nalit do 250 ml solanky, a pak extrahován 3 x 80 ml ethylacetátu. Organické vrstvy byly usušeny nad MgSO_4 , a pak koncentrovány při sníženém tlaku. Purifikace chromatografií na silikagelu poskytla 330 mg (67 %) 6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(2,6-dichlorfenyl)ethenyl]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu jako žlutého oleje. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,72 (dd, 2H, $J = 4,6, 1,5$ Hz), 8,16 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,84 (s, 1H), 7,62 (ss, 2H, $J = 4,5, 1,6$ Hz), 7,60 (s, 2H), 7,56 (dd, 1H, $J = 8,5, 1,5$ Hz), 7,39 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 7,18-7,12 (m, 1H), 3,64 (t, 2H, $J = 8,3$ Hz), 0,92 (t, 2H, $J = 8,3$ Hz), 0,00 (s, 9H).

Příklad 29(b)

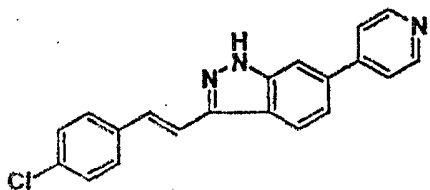
6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(3-methylfenyl)ethenyl]-1H-indazol



6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd byl konvertován na požadovaný produkt podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(a). ^1H NMR (300 MHz, MeOH-d_4) 8,88 (d, 1H, $J = 6,7$ Hz), 8,41-8,35 (m, 3H), 8,16 (s, 1H), 7,80 (dd, 1H, $J = 8,6, 1,6$ Hz), 7,67-7,48 (m, 4H), 7,35 (t, 1H, $J = 7,6$ Hz), 7,22-7,17 (m, 1H), 4,88 (s, 3H). MS (FAB) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 312, změřeno 312. Analyzováno s 0,2 H_2O , 1,1 trifluoroctovou kyselinou, vypočteno C (63,27), H (4,23), N (9,54). Změřeno: C (63,08), H (4,18), N (9,80).

Příklad 29(c)

6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(4-chlorfenyl)ethenyl]-1H-indazol

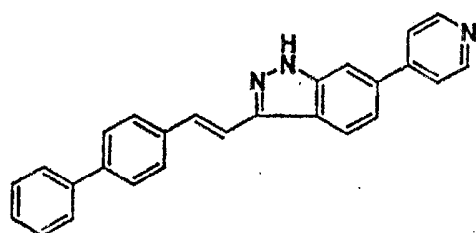


6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd byl konvertován na požadovaný produkt podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(a). ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13,40 (s, 1H), 8,67 (dd, 2H, $J = 4,6, 1,6$ Hz), 8,33 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,92 (s, 1H), 7,81 (dd, 2H, $J = 4,6, 1,6$ Hz), 7,78 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz), 7,67-7,56 (m, 3H), 7,45 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz). Analyzováno s 0,15 H_2O , vypočteno: C

(71,81), H (4,31), N (12,56). Změřeno: C (71,85), H (4,26), N (12,48).

Příklad 29(d)

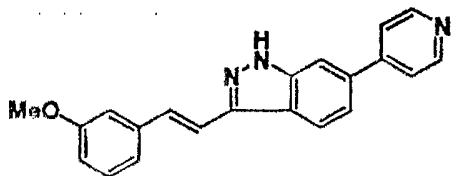
6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(bifenyl-4-yl)ethenyl]-1H-indazol



6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd byl konvertován na sloučeninu z příkladu 29(d) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(a). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,40 (s, 1H), 8,68 (d, 2H, J = 4,6, 1,5 Hz), 8,35 (d, 1H, J = 8,5 Hz), 7,93 (s, 1H), 7,87-7,79 (m, 4H), 7,73 (d, 4H, J = 8,1 Hz), 7,66-7,60 (m, 3H), 7,45 (m, 2H), 7,41-7,34 (m, 1H). MS (FAB) $[M+H]^+/z$ vypočteno 374, změřeno 374. Analyzováno s 0,20 H_2O , vypočteno: C (82,82), H (5,19), N (11,15). Změřeno: C (82,82), H (5,19), N (11,16).

Příklad 29(e)

6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(3-methoxyfenyl)ethenyl]-1H-indazol

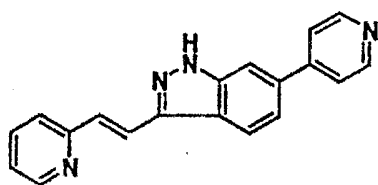


6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd byl konvertován na sloučeninu z příkladu 29(e) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(a). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,39 (s, 1H), 8,67 (d, 2H, J = 5,3

Hz), 8,33 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz), 7,92 (s, 1H), 7,81 (dd, 2H, $J = 4,6, 1,5$ Hz), 7,65-7,54 (m, 3H), 7,35-7,28 (m, 3H), 3,83 (s, 3H). MS (FAB) $[M+H]^+/z$ vypočteno 328, změřeno 328. Analyzováno s 0,20 H₂O, vypočteno: C (76,20), H (5,30), N (12,70). Změřeno: C (76,17), H (5,34), N (12,65).

Příklad 29(f)

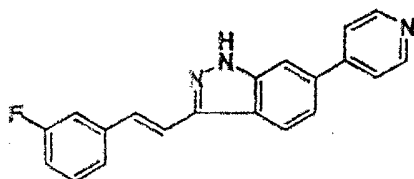
6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(pyrid-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd byl konvertován na sloučeninu z příkladu 29(f) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(a). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 8,68 (dd, 2H, $J = 4,5, 1,6$ Hz), 8,62 (d, 1H, $J = 3,8$ Hz), 8,33 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,99 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,94 (s, 1H), 7,86-7,78 (m, 3H), 7,73-7,57 (m, 3H), 7,32-7,26 (m, 1H). Analyzováno s 0,05 H₂O, vypočteno: C (76,26), H (4,75), N (18,72). Změřeno: C (76,22), H (4,79), N (18,76).

Příklad 29(g)

6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(3-fluorfenyl)ethenyl]-1H-indazol

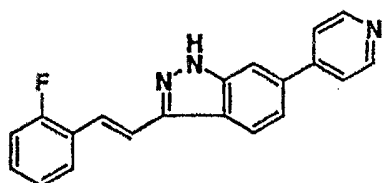


6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd byl konvertován na sloučeninu z příkladu

29(g) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(a). ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13,40 (s, 1H), 8,68 (dd, 2H, $J = 4,5, 1,6$ Hz), 8,34 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,92 (s, 1H), 7,81 (dd, 2H, $J_1 = 4,5, 1,6$ Hz), 7,74–7,52 (m, 5H), 7,49–7,40 (m, 1H), 7,16–7,07 (m, 1H). MS (FAB) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 316, změřeno 316. Anal. výpočet: C (76,17), H (4,48), N (13,33). Změřeno: C (76,07), H (4,53), N (13,36).

Příklad 29(h)

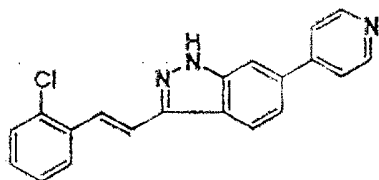
6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(2-fluorfenyl)ethenyl]-1H-indazol



6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd byl konvertován na sloučeninu z příkladu 29(h) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(a). ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13,43 (s, 1H), 8,66 (dd, 2H, $J = 4,5, 1,6$ Hz), 8,23 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz), 7,98–7,90 (m, 2H), 7,80 (dd, 2H, $J = 4,5, 1,7$ Hz), 7,73–7,54 (m, 3H), 7,40–7,31 (m, 1H), 7,30–7,21 (m, 2H). MS (FAB) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 316, změřeno 316. Anal. výpočet: C (76,17), H (4,48), N (13,33). Změřeno: C (76,12), H (4,51), N (13,29).

Příklad 29(i)

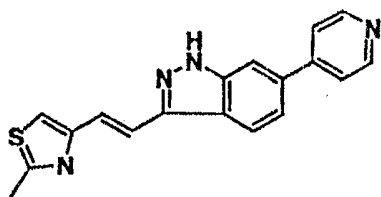
6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(3-chlorfenyl)ethenyl]-1H-indazol



6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd byl konvertován na sloučeninu z příkladu 29(i) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(a). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,42 (s, 1H), 8,68 (dd, 2H, J = 4,5, 1,6 Hz), 8,35 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 7,92 (s, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,82 (dd, 2H, J = 4,5, 1,7 Hz), 7,74-7,51 (m, 4H), 7,43 (t, 1H, J = 7,8 Hz), 7,37-7,21 (m, 1H). MS (FAB) $[M+H]^+/z$ vypočteno 332, změřeno 332. Anal. výpočet: C (72,40), H (4,25), N (12,67). Změřeno: C (72,52), H (4,28), N (12,57).

Příklad 29(j)

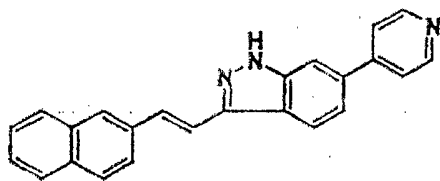
6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(2-methylthiazol-4-yl)ethenyl]-1H-indazol



6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd byl konvertován na sloučeninu z příkladu 29(j) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(a). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,38 (s, 1H), 8,67 (dd, 2H, J = 4,5, 1,6 Hz), 8,25 (d, 1H, J = 8,5 Hz), 7,92 (s, 1H), 7,81 (dd, 2H, J = 4,5, 1,6 Hz), 7,70-7,50 (m, 4H), 2,72 (s, 3H). MS (FAB) $[M+H]^+/z$ vypočteno 319, změřeno 319. Analyzováno s 0,15 trifluoroctovou kyselinou, vypočteno: C (65,51), H (4,25), N (16,70). Změřeno: C (65,56), H (4,37), N 16,53).

Příklad 29(k)

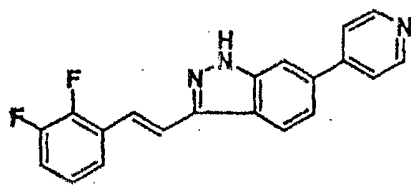
6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(naftalen-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd byl konvertován na sloučeninu z příkladu 29(k) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(a). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 13,40 (s, 1H), 8,68 (dd, 2H, J = 4,6, 1,4 Hz), 8,39 (d, 1H, J = 8,5 Hz), 8,17 (s, 1H), 8,09-7,89 (m, 8H), 7,83 (dd, 2H, J = 4,6, 1,6 Hz), 7,74 (s, 2H), 7,65 (dd, 1H, J = 8,5, 1,4 Hz), 7,60-7,46 (m, 4H). MS (FAB) [M+H]⁺/z vypočteno 348, změřeno 348. Analyzováno s 1,05 trifluoroctovou kyselinou, vypočteno: C (67,10), H (3,89), N (9,00). Změřeno: C (67,20), H (3,93), N (9,05).

Příklad 29 (1)

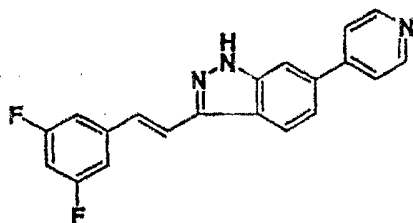
6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(2,3-difluorfenyl)ethenyl]-1H-indazol



6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd byl konvertován na sloučeninu z příkladu 29(1) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(a). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 + MeOH-d_4) δ 8,68 (d, 2H, $J = 5,6$ Hz), 8,02 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,70 (s, 1H), 7,58 (dd, 2H, $J = 4,8, 1,5$ Hz), 7,57-7,39 (m, 3H), 7,38-7,31 (m, 1H), 7,06-6,96 (m, 2H). MS (FAB) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 334, změřeno 334. Analyzováno s 0,80 H_2O , vypočteno: C (68,08), H (4,23), N (12,08). Změřeno: C (68,77), H (3,93), N (11,85).

Příklad 29(m)

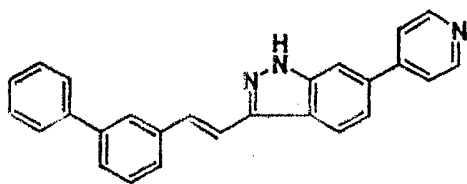
6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(3,5-difluorfenyl)ethenyl]-1H-indazol



6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd byl konvertován na sloučeninu z příkladu 29(m) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(a). ^1H NMR (300 MHz, MeOH-d_4) δ 8,69 (d, 2H, $J = 6,3$ Hz), 8,34 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,97 (s, 1H), 7,97 (d, 2H, $J = 6,3$ Hz), 7,71 (d, 1H, $J = 10,0$ Hz), 7,62 (s 1H), 7,60 (s, 1H), 7,36 (d, 1H, $J = 11,11$), 6,95-6,89 (m, 1H). MS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 334, změřeno 334. Anal. výpočet: C (72,06), H (3,93), N (12,61). Změřeno: C (72,20), H (4,01), N (12,58).

Příklad 29(n)

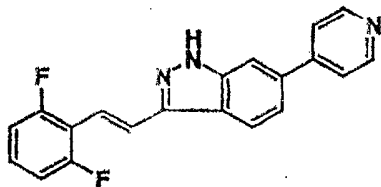
6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(bifenyl-3-yl)ethenyl]-1H-indazol



6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd byl konvertován na sloučeninu z příkladu 29(n) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(x). ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 8,68 (d, 2H, $J = 6,1$ Hz), 8,39 (d, 1H, $J = 8,5$), 8,04 (s, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,82 (d, 2H, $J = 6,2$ Hz), 7,79-7,37 (m, 11H). MS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 374, změřeno 374. Anal. výpočet: C (83,62), H (5,13), N (11,25). Změřeno: C (83,47), H (5,08), N (11,32).

Příklad 29(o)

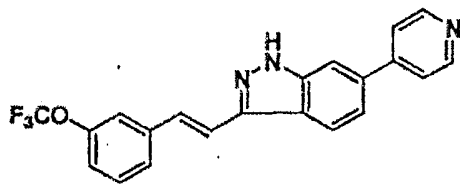
6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(2,6-difluorfenyl)ethenyl]-1H-indazol



6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd byl konvertován na sloučeninu z příkladu 29(o) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(a). ^1H NMR (300 MHz, MeOH- d_4) δ 8,69 (d, 2H, $J = 6,3$ Hz), 8,21 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz), 7,97 (s, 1H), 7,88 (d, 2H, $J = 6,3$ Hz), 7,83 (d, 1H, $J = 17,1$ Hz), 7,71 (1H, $J = 8,6$ Hz), 7,65 (d, 1H, $J = 17,1$ Hz), 7,40-7,35 (m, 1H), 7,13-7,08 (m, 2H). MS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 334, změřeno 334. Analyzováno s 0,1 H_2O , vypočteno: C (71,67), H (3,97), N (12,54). Změřeno: C (71,37), H (3,90), N (12,31).

Příklad 29(p)

6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(3-trifluormethoxyfenyl)ethenyl]-1H-indazol

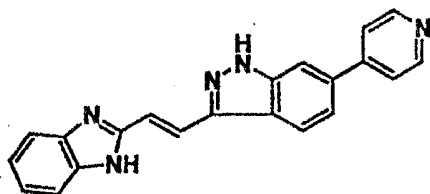


6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd byl konvertován na sloučeninu z příkladu 29(p) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(a). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8,84 (d, 2H, $J = 6,4$ Hz), 8,43 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 8,19 (d, 2H, $J = 6,4$ Hz), 8,07 (s, 1H), 7,81-7,27 (m, 5H), 7,78 (s, 1H). MS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 382, změřeno

382. Analyzováno s 1,0 trifluoroctovou kyselinou, vypočteno: C (55,76), H (3,05), N (8,48). Změřeno: C (55,84), H (3,09), N (8,45).

Příklad 29(q)

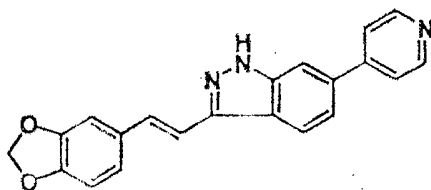
6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(benzimidazol-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd byl konvertován na sloučeninu z příkladu 29(q) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(a). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8,69 (d, 2H, $J = 6,1$ Hz), 8,25 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 8,03 (d, 1H, $J = 16,7$ Hz), 7,97 (s, 1H), 7,84 (d, 2H, $J = 6,2$), 7,72 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,60-7,57 (m, 2H), 7,53 (d, 1H, $J = 16,7$ Hz), 7,22-7,19 (m, 2H). MS (ES) $[M+H]^+/z$ vypočteno 338, změřeno 338. Analyzováno s 2,0 trifluoroctovou kyselinou, 0,2 H_2O , vypočteno: C (52,77), H (3,08), N (12,31). Změřeno: C (52,59), H (3,17), N (12,18).

Příklad 29(r)

6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(3,4-methylenedioxyfenyl)ethenyl]-1H-indazol

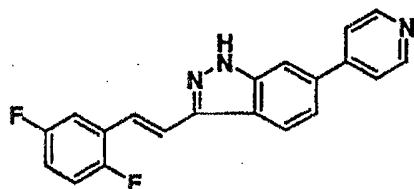


6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd byl konvertován na sloučeninu z příkladu

29(r) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(a). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8,67 (d, 2H, $J = 6,1$ Hz), 8,30 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,89 (s, 1H), 7,81 (d, 2H, $J = 6,1$ Hz), 7,61 (d, 1H, $J = 9,9$ Hz), 7,46-7,42 (m, 3H), 7,18 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 6,95 (d, 1H, 8,0 Hz), 6,05 (s, 2H). MS (ES) $[M+H]^+/z$ vypočteno 342, změřeno 342. Anal. výpočet: C (73,89), H (4,43), N (12,31). Změřeno: C (73,74), H (4,52), N (12,40).

Příklad 29(s)

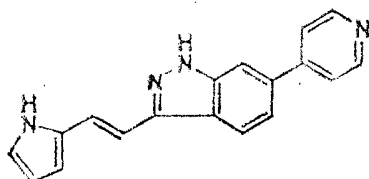
6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(2,5-difluorfenyl)ethenyl]-1H-indazol



6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd byl konvertován na sloučeninu z příkladu 29(s) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(a). ^1H NMR (300 MHz, MeOH- d_4) δ 8,53 (d, 2H, $J = 6,0$ Hz), 8,03 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,60 (d, 2H, $J, 2$ Hz), 7,56-7,35 (m, 3H), 7,34-7,26 (m, 1H), 7,03-6,93 (m, 1H), 6,90-6,81 (m, 1H). MS (ES) $[M+H]^+/z$ vypočteno 334, změřeno 334. Analyzováno s 0,30 H_2O , vypočteno: C (70,91), H (4,05), N (12,37). Změřeno: C (70,97), H (4,17), N (12,37).

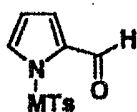
Příklad 29(t)

6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(1H-pyrol-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

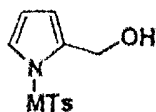


6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd byl konvertován na sloučeninu z příkladu 29(t) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(a). ^1H NMR (300 MHz, MeOH-d_4) δ 8,60 (d, 2H, $J = 6,3$ Hz), 8,13 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,86 (s, 1H), 7,79 (d, 2H, $J = 6,2$ Hz), 7,57 (dd, 1H, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz), 7,40 (d, 1H, $J = 16,8$ Hz), 7,09 (d, 1H, $J = 16,7$ Hz), 6,87-6,82 (m, 1H), 6,40-6,35 (m, 1H), 6,16 (t, 1H, $J = 2,9$ Hz). MS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 287, změřeno 287. Analyzováno s 0,5 ethylacetátem, 0,3 tetrahydrofuranem, 0,1 hexanem, 0,1 ethylendiaminem, vypočteno: C (72,07), H (6,21), N (16,05). Změřeno: C (71,95), H (6,20), N (15,76).

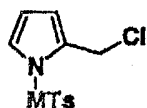
Výchozí látka byla připravena takto:



(i) Roztok 9,5 g (100 mmol) 1H-pyrol-2-karbaldehydu a 500 ml THF byl ochlazen v ledové lázni. Bylo přidáno 19,2 g (200 mmol) Bu^tONa a reakční směs byla míchána při teplotě 0°C po dobu 1 hodiny. Pak bylo přidáno 32,7 g (150 mmol) MtsCl . Reakční směs byla ponechána ohřát se na teplotu místnosti a udržována po dobu 2 hodin při teplotě místnosti. Roztok pak byl podroben působení 100 ml saturovaného vodného NH_4Cl a směs byla nalita do 2 l solanky. Směs byla extrahována 3 x 300 ml EtOAc . Spojené organické vrstvy byly usušeny nad MgSO_4 a koncentrovány při sníženém tlaku. Výsledný olej byl purifikován chromatografií na silikagelu za vzniku 15,7 g (57 %) 1-(2,4,6-trimethylbenzyl)-1H-pyrol-2-karbaldehydu jako světle žlutého oleje. ^1H NMR (CDCl_3) δ 9,50 (s, 1H), 7,79-7,74 (m, 1H), 7,12 (dd, 1H, $J = 3,7, 1,8$ Hz), 6,95 (s, 2H), 6,38 (t, 1H, $J = 3,4$ Hz), 2,50 (s, 6H), 2,30 (s, 3H).



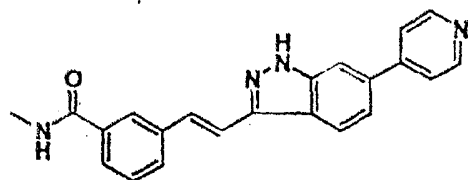
(ii) 2,77 g (10 mmol) 1-(2,4,6-trimethylbenzensulfonyl)-1H-pyrrol-2-karbaldehydu ve 100 ml THF bylo podrobeno působení 0,44 g (20 mmol) LiBH_4 při teplotě místnosti. Výsledný roztok byl udržován při teplotě místnosti po dobu 1 hodiny. Pak bylo přidáno 10 ml MeOH a výsledná směs byla nalita do 600 ml solanky a extrahována 3 x 200 ml EtOAc. Spojené organické vrstvy byly usušeny nad MgSO_4 a koncentrovány při sníženém tlaku. Výsledný olej pak byl purifikován na koloně se silikagelem za vzniku 2,43 g (870) [1-(2,4,6-trimethylbenzensulfonyl)-1H-pyrrol-2-yl]methanolu jako světle hnědého oleje. ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,17 (dd, 1H, $J = 3,3, 1,8$ Hz), 6,99 (s, 2H), 6,28-6,23 (m, 1H), 6,18 (t, 1H, $J = 3,3$ Hz), 4,42 (s, 2H), 2,50 (s, 6H), 2,30 (s, 3H).



(iii) Roztok 1,4 g (5,0 mmol) [1-(2,4,6-trimethylbenzensulfonyl)-1H-pyrrol-2-yl]methanolu ve 25 ml CHCl_3 byl ochlazen v ledové lázni. Bylo pomalu přidáno 1,1 ml (15 mmol) SOCl_2 . Roztok byl ponechán ohřát se na teplotu místnosti a udržován dalších 45 minut. Roztok pak byl koncentrován při sníženém tlaku. Bylo získáno 1,5 g (100 %) 2-chlormethyl-1-(2,4,6-trimethylbenzensulfonyl)-1H-pyrrolu jako hnědé pevné látky. ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,28 (dd, 1H, $J = 3,3, 1,7$ Hz), 6,98 (s, 2H), 6,38-6,34 (m, 1H), 6,19 (t, 1H, $J = 3,4$ Hz), 4,58 (s, 2H), 2,50 (s, 6H), 2,30 (s, 3H).

Příklad 29(u)

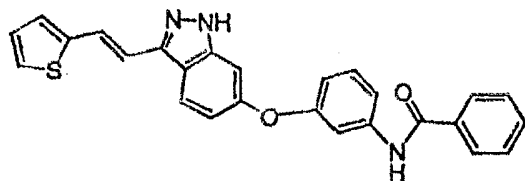
6-pyrid-4-yl-3-E-[2-(3-methylkarbamoylmethoxyfenyl)ethenyl]-1H-indazol



6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehyd byl konvertován na sloučeninu z příkladu 29(u) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(a). ^1H NMR (300 MHz, MeOH- d_4) δ 8,68 (d, 2H, $J = 5,9$ Hz), 8,51 (š s, 1H), 8,37 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 8,19 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,87 (d, 1H, $J = 7,7$ Hz), 7,85 (d, 2H, $J = 6,1$ Hz), 7,62 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 7,65-7,63 (m, 3H), 7,51 (t, 1H, $J = 7,6$ Hz). MS (ES) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 355, změřeno 355. Analyzováno s 0,4 trifluoroctovou kyselinou, 0,50 H_2O , vypočteno: C (69,67), H (4,98), N (14,26). Změřeno: C (69,78), H (5,18), N (14,08).

Příklad 30(a)

6-[3-benzamidofenoxy]-3-E-[2-(thien-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

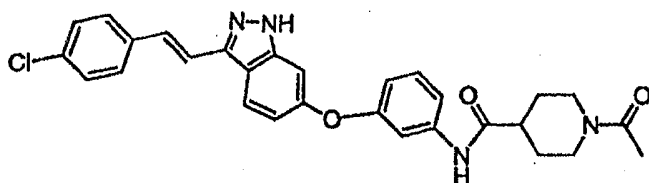


Sloučenina z příkladu 30(a) byla připravena podobným způsobem jako v příkladu 6(a) kromě toho, že (E)-3-thiofen-2-ylakryloylchlorid byl použit namísto 3-(4-chlorfenyl)-akryloylchloridu v kroku (i). ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,05 (s, 1H), 10,33 (s, 1H), 8,19 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 7,92 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz), 7,70 (d, 1H, $J = 16,5$ Hz), 7,65-7,49 (m, 6H), 7,40 (t,

1H, $J = 8,1$ Hz), 7,35 (s, 1H, s jemným dělením), 7,20 (d, 1H, $J = 16,5$ Hz), 7,10 (m, 1H), 7,04 (s, 1H), 6,98 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 6,86 (s, 1H, $J = 9,8$ Hz). Anal. výpočet pro $C_{26}H_{19}N_3O_2S \cdot 0,6 H_2O$: C, 69,65, H, 4,54, N, 9,37, S, 7,15. Změřeno: C, 69,77, H, 4,45, N, 9,52, S, 7,02.

Příklad 30(b)

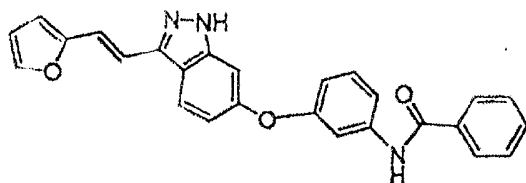
6-[3-(1-acetylpiperidin-4-ylkarboxamido)fenoxy]-3-E-[2-(4-chlorfenyl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 30(b) byla připravena podobným způsobem, jako byl popsán pro příklad 6(a) kromě toho, že 1-acetylpiperidin-4-karboxylová kyselina a HATU byly použity namísto benzoylchloridu v kroku (ii). ^1H NMR (DMSO- d_6) ($J = 8,6$ Hz) δ 7,76, (d, $J = 8,6$ Hz), 7,53 (d, $J = 6,2$ Hz), 7,46 (d, $J = 8,4$ Hz), 7,37 (m, 3H), 7,01 (s, 1H, s jemným dělením), 6,97 (d, $J = 8,8$ Hz), 6,78 (d, $J = 7,7$ Hz), 4,38 (m, 1H), 3,85 (m, 1H), 3,09-2,96 (m, 1H), 2,58 (m, 2H), 1,99 (s, 3H), 1,77 (m, 2H), 1,55 (m, 1H), 1,37 (m, 1H). Anal. výpočet pro $C_{29}H_{27}ClN_4O_3 \cdot 1,3 H_2O$: C, 64,69, H, 5,54, N, 10,41. Změřeno: C, 64,64, H, 5,51, N, 10,23.

Příklad 30(c)

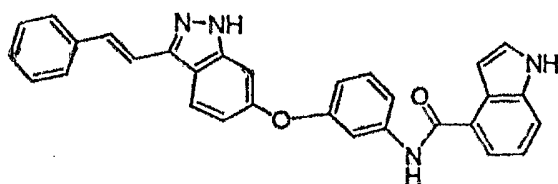
6-[3-benzamidofenoxyl]-3-E-[2-(fur-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 30(c) byla připravena podobným způsobem jako v příkladu 6(a) kromě toho, že (E)-3-furan-2-ylakryloylchlorid, připravený podle Collect, Czech. Chem. Comm., 52, 409-24, 1987), byl použit namísto 3-(4-chlorfenyl)akryloylchloridu v kroku (i). ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 13,00 (s, 1H), 10,32 (s, 1H), 8,14 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 7,91 (d, 2H, $J = 7,0$ Hz), 7,73 (s, 1H), 7,70-7,51 (m, 5H), 7,40 (t, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,30 (AB, 2H, $J = 16,7$ Hz), 7,04 (s, 1H), 6,98 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 6,86 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 6,65 (s, 1H, s jemným dělením), 6,60 (s, 1H, s jemným dělením). Anal. výpočet pro $\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot 0,7 \text{ H}_2\text{O}$: C, 71,94, H, 4,74, N, 9,68. Změřeno: C, 72,17, H, 4,83, N, 9,44.

Příklad 30(d)

6-[3-(indol-4-ylkarboxamido)fenoxy]-3-E-styrylindazol

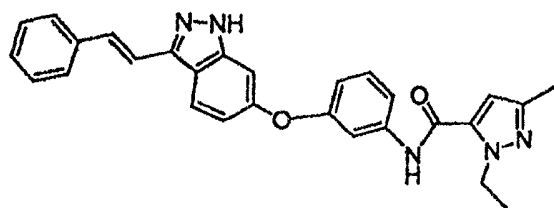


Sloučenina z příkladu 30(d) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 30(a) s použitím 3-(styryl-1H-indazol-6-yloxy)fenylaminu namísto 3-(3-styryl-4,5-dihydro-1H-indazol-6-yloxy)fenylaminu a 1H-indol-4-karboxylové kyseliny namísto benzoové kyseliny v kroku (ii). ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 12,99 (s, 1H), 11,33 (s, 1H), 10,24 (s, 1H), 8,22 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 7,72-7,38 (m, 10H), 7,30 (d, 1H, $J = 7,1$ Hz), 7,19 (m, 2H), 7,04 (m, 3H), 6,82 (m, 2H). Anal. výpočet

pro $C_{30}H_{22}N_4O_2 \cdot 0,6 H_2O$: C, 74,86, H, 4,86, N, 11,64. Změřeno: C, 74,90, H, 5,01, N, 11,33.

Příklad 30(e)

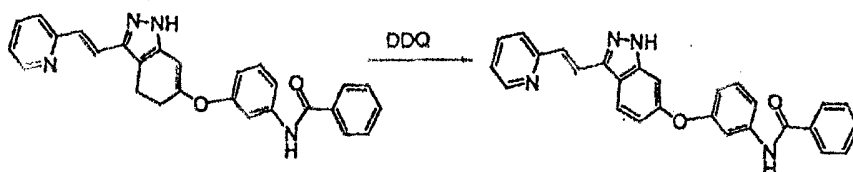
6-[3-((1-ethyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)fenoxy]-3-E-styrylindazol



Sloučenina z příkladu 30(e) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 30(a) s použitím 3-(styryl-1H-indazol-6-yloxy)fenylaminu namísto 3-(3-styryl-4,5-dihydro-1H-indazol-6-yloxy)fenylaminu a 1-ethyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-karboxylové kyseliny namísto benzoové kyseliny v kroku (ii).

Příklad 31(a)

6-[3-benzamidofenoxy]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

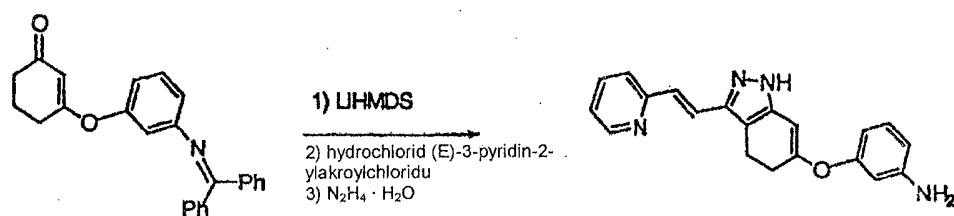


K míchanému roztoku 492 mg (1,13 mmol) 6-[3-benzamidofenoxy]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-4,5-dihydro-1H-indazolu v 15 ml 1,4-dioxanu bylo přidáno 386 mg (1,7 mmol) 2,3-dichlor-5,6-dikyano-1,4-benzochinonu (DDQ). Reakční směs byla míchána po dobu 30 minut při teplotě místnosti, pak byla nalita do saturovaného roztoku $NaHCO_3$ a EtOAc. Vrstvy byly odděleny a vodná vrstva byla opět extrahována EtOAc. Spojené

organické vrstvy byly promyty postupně saturovaným roztokem NaHCO_3 a saturovaným roztokem NaCl , usušeny nad MgSO_4 a koncentrovány při sníženém tlaku. Zbytek byl podroben velmi rychlé chromatografii na silikagelu za eluce směsí $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}:\text{MeOH}$ (1:1:0,1). Získaný olej byl triturován ze směsi EtOAc a hexanu za vzniku 420 mg (86 %) sloučeniny uvedené v názvu jako žlutohnědé pevné látky. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 13,12 (s, 1H), 10,30 (s, 1H), 8,60 (d, 1H, $J = 3,8$ Hz), 8,22 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 7,93 (m, 3H), 7,82 (t, 1H, $J = 7,7$ Hz), 7,68–7,49 (m, 7H), 7,40 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz), 7,27 (m, 1H), 7,08 (s, 1H), 7,03 (s, 1H), 7,03 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 6,87 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, s jemným dělením). Anal. výpočet pro $\text{C}_{27}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot 0,65 \text{ EtOAc}$: C, 72,59, H, 5,19, N, 11,44. Změřeno: C, 72,34, H, 5,11, N, 11,82.

Výchozí látka byla připravena takto:

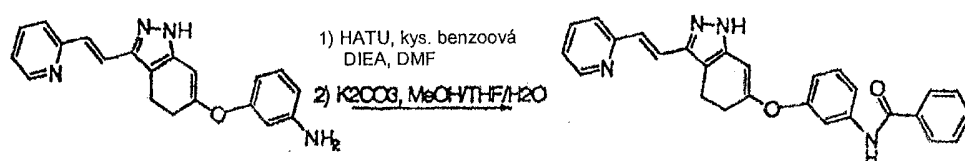
Krok (i):



Roztok 4,00 g (10,9 mmol) 3-[3-(benzhydryliden-amino)fenoxy]cyklohex-2-enonu ve 20 ml THF byl přidán pomalu k roztoku 36 ml LiHMDS (1,0M roztok v THF) při teplotě -78°C . 15 minut poté, co bylo přidávání ukončeno, byl přidán hydrochlorid (E)-3-pyridin-2-ylakryloylchloridu a míchání pokračovalo v 78°C po dobu 30 minut. Reakce byla zastavena saturovaným roztokem NH_4Cl a extrahována 3 x EtOAc . Spojené organické vrstvy byly promyty saturovaným roztokem NaCl , usušeny nad MgSO_4 a koncentrovány při sníženém tlaku. Zbytek byl podroben velmi rychlé chromatografii na silikagelu za eluce směsí hexanu a EtOAc (2:1). Vhodné frakce byly

koncentrovány při sníženém tlaku a rozpuštěny v 8 ml směsi EtOH a HOAc (1:1). K tomuto roztoku bylo v 80 °C přidáno 3,4 ml (70,0 mmol) hydrátu hydrazinu. Po 15 minutách byla veškerá výchozí látka zpracována a reakční směs byla opatrně nalita do saturovaného NaHCO₃ a extrahována 2 x EtOAc. Spojené organické vrstvy byly promyty saturovaným roztokem NaCl, usušeny nad MgSO₄ a koncentrovány při sníženém tlaku. Zbytek byl podroben velmi rychlé chromatografii na silikagelu za eluce směsí CH₂Cl₂/MeOH (9:1) za vzniku 676 mg (19 %) 6-(3-aminofenoxy)-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-4,5-dihydro-1H-indazolu. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 12,51 (s, 1H), 8,57 (d, 1H, J = 3,8 Hz), 7,78 (t, 1H, J = 7,8 Hz), 7,51 (m, 2H), 7,25 (m, 1H), 7,05 (m, 2H), 6,35 (d, 1H, J = 7,9 Hz, s jemným dělením), 6,32 (t, 1H, J = 2,1 Hz), 6,23 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 5,54 (s, 1H), 5,23 (s, 2H), 2,95 (t, 2H, J = 8,2 Hz), 2,60 (t, 2H, J = 8,2 Hz), MS [M+H]⁺/z vypočteno 331. Změřeno: 331. Anal. výpočet pro C₂₀H₁₈N₄O · 0,15 H₂O: C, 72,12, H, 5,54, N, 16,82. Změřeno: C, 72,11, H, 5,55, N, 16,61.

Krok (ii)

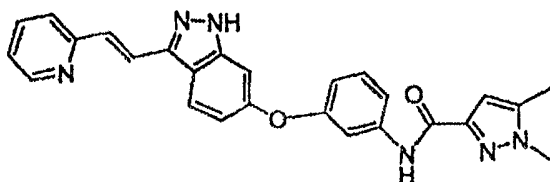


K míchanému roztoku 350 mg (1,06 mmol) dihydroanilinu a 776 mg (6,36 mmol) benzoové kyseliny v 15 ml DMF bylo přidáno 2,42 g (6,36 mmol) HATU a 1,8 ml (12,71 mmol) NEt₃. Reakční směs byla zahřívána v 50 °C po dobu 1,5 hodiny, ochlazená a nalita do směsi ledu a saturovaného roztoku NaCl. Ppt byl sbírán vakuovou filtrací, promyt H₂O a usušen na vzduchu. K tomuto filtračnímu koláči rozpuštěnému v 10 ml směsi MeOH a THF (1:1) bylo přidáno 650 mg K₂CO₃ a 1 ml H₂O. Po 1 hodině

byla reakční směs nalita do saturovaného roztoku NaCl a extrahována 2 x EtOAc. Spojené organické vrstvy byly promyty saturovaným roztokem NaCl, usušeny nad MgSO_4 a koncentrovány při sníženém tlaku. Zbytek byl podroben velmi rychlé chromatografii na silikagelu za eluce směsí $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}/\text{MeOH}$ (1:1:0,1) za vzniku 333 mg (72 %) 6-[3-benzamidofenoxy]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-4,5-dihydro-1H-indazolu. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 12,58 (š s, 1H), 10,34 (s, 1H), 8,57 (d, 1H, $J = 3,8$ Hz), 7,95 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz), 7,81-7,70 (m, 2H), 7,63-7,50 (m, 6H), 7,40 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz), 7,25 (m, 1H), 7,09 (d, 1H, $J = 16,3$ Hz), 6,89 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 5,64 (s, 1H), 2,99 (t, 2H, $J = 8,1$ Hz), 2,66 (t, 2H, $J = 8,1$ Hz). Anal. výpočet pro $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot 0,1 \text{ CH}_2\text{Cl}_2$: C, 73,48, H, 5,05, N, 12,65. Změřeno: C, 73,48, H, 5,05, N, 12,48.

Příklad 31(b)

6-[3-((1,5-dimethyl-1H-pyrazol-3-yl)karboxamido)fenoxy]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

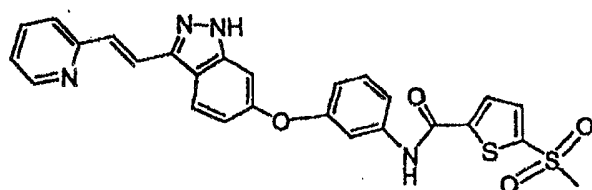


Sloučenina z příkladu 31(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 31(a) kromě toho, že 1,5-dimethyl-1H-pyrazol-3-karboxylová kyselina byla použita namísto benzoové kyseliny v kroku (ii). ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 13,13 (s, 1H), 10,07 (s, 1H), 8,60 (d, 1H, $J = 4,3$ Hz), 8,21 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 7,93 (d, 1H, $J = 16,3$ Hz), 7,82 (t, 1H, $J = 7,4$ Hz), 7,69 (m, 3H), 7,56 (d, 1H, $J = 16,3$ Hz), 7,32 (m, 2H), 7,05 (s, 1H), 7,01 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 6,80 (m, 1H), 6,52 (s, 1H), 3,81 (s, 3H) 2,29 (s, 3H). Anal. výpočet pro

$C_{26}H_{22}N_6O_2 \cdot 0,1 CH_2Cl_2/0,1 hexan$: C, 68,58, H, 5,09, N, 17,97.
Změřeno: C, 68,26, H, 5,25, N, 17,61.

Příklad 31(c)

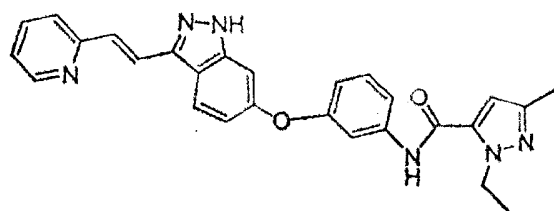
6-[3-((5-methylsulfonylthien-2-yl)karboxamido)fenoxy]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 31(c) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 31(a) kromě toho, že 5-methansulfonyl-thiofen-2-karboxylová kyselina byla použita namísto benzoové kyseliny v kroku (ii). ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,17 (s, 1H), 10,58 (s, 1H), 8,61 (d, 1H, $J = 4,0$ Hz), 8,24 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 8,05 (d, 1H, $J = 4,1$ Hz), 7,97-7,79 (m, 3H), 7,68 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz), 7,60-7,48 (m, 3H), 7,43 (t, 1H, $J = 8,2$ Hz), 7,28 (m, 1H), 7,10 (s, 1H, s jemným dělením), 7,00 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 6,92 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, s jemným dělením), 3,41 (s, 3H). Anal. výpočet pro $C_{26}H_{20}N_4O_4S_2 \cdot 0,4 EtOAc$: C, 60,07, H, 4,24, N, 10,15, S, 11,62. Změřeno: C, 60,22, H, 4,48, N, 10,05, S, 11,49.

Příklad 31(d)

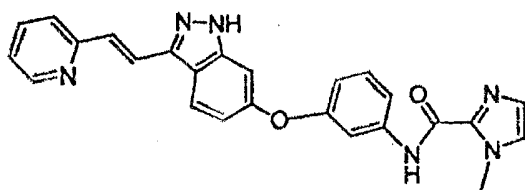
6-[3-((1-ethyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)fenoxy]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 31(d) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 31(a) kromě toho, že 1-ethyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-karboxylová kyselina byla použita namísto benzoové kyseliny v kroku (ii). ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,15 (s, 1H), 10,18 (s, 1H), 8,61 (d, 1H, $J = 3,7$ Hz), 8,22 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 7,94 (d, 1H, $J = 16,3$ Hz), 7,82 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz), 7,67 (d, 1H, $J = 7,7$ Hz), 7,55 (m, 3H), 7,40 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz), 7,28 (m, 1H), 7,06 (s, 1H), 7,01 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 6,89 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz), 6,78 (s, 1H), 4,38 (q, 2H, $J = 7,1$ Hz), 2,19 (s, 3H), 1,29 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz). Anal. výpočet pro $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_2 \cdot 0,6 \text{ EtOAc}$: C, 68,25, H, 5,61, N, 16,24. Změřeno: C, 68,28, H, 5,88, N, 16,01.

Příklad 31(e)

6-[3-((1-methylimidazol-2-yl)karboxamido)fenoxy]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

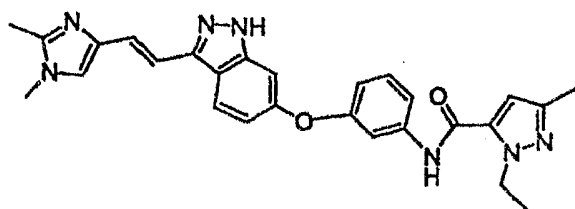


Sloučenina z příkladu 31(e) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 31(a) kromě toho, že 1-methyl-1H-imidazol-2-karboxylová kyselina byla použita namísto benzoové kyseliny v kroku (ii). ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,13 (s, 1H), 10,47 (s, 1H), 8,60 (d, 1H, $J = 3,9$ Hz), 8,21 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 7,93 (d, 1H, $J = 16,3$ Hz), 7,82 (t, 1H, J

= 7,6 Hz), 7,65 (m, 3H), 7,56 (d, 1H, $J = 16,3$ Hz), 7,43 (s, 1H), 7,37 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz), 7,28 (m, 1H), 7,04 (m, 3H), 6,84 (d, 1H, $J = 7,7$ Hz), 3,95 (s, 3H). Anal. výpočet pro $C_{25}H_{20}N_6O_2 \cdot 0,4 H_2O$: C, 67,49, H, 4,80, N, 18,65. Změřeno: C, 67,68, H, 4,73, N, 18,94.

Příklad 31(f)

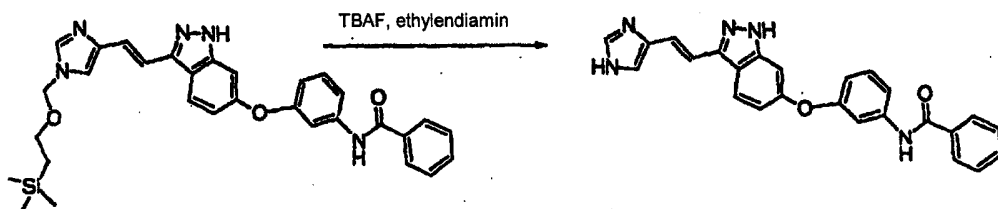
6-[3-((1-ethyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)fenoxy]-
3-E-[2-(1,2-dimethyl-1H-imidazol-4-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 31(f) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 31(a) kromě toho, že hydrochlorid (E)-3-(1,2-dimethyl-1H-imidazol-4-yl)akryloylchlorid byl použit namísto hydrochloridu (E)-3-pyridin-2-ylakryloylchloridu v kroku (i) a 1-ethyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-karboxylová kyselina byla použita namísto benzoové kyseliny v kroku (ii). ^1H NMR ($DMSO-d_6$) δ 12,82 (s, 1H), 10,17 (s, 1H), 8,05 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 7,58 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,48 (s, 1H), 7,38 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz), 7,25 (s, 2H), 7,20 (s, 1H), 7,01 (s, 1H), 6,92 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 6,85 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 6,78 (s, 1H), 4,37 (q, 2H, $J = 7,0$ Hz), 3,56 (s, 3H), 2,31 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 1,29 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz). Anal. výpočet pro $C_{27}H_{27}N_7O_2 \cdot 1,0 H_2O \cdot 0,3 EtOAc$: C, 64,39, H, 6,02, N, 18,64. Změřeno: C, 64,52, H, 5,98, N, 18,52.

Příklad 32(a)

6-[3-benzamidofenoxy]-3-E-[2-(1H-imidazol-4-yl)ethenyl]-1H-indazol

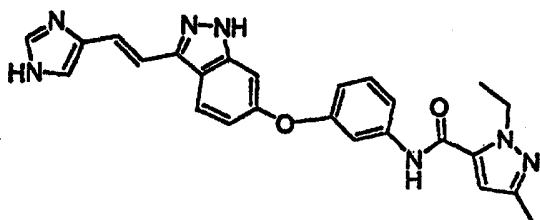


K míchanému roztoku 213 mg (0,39 mmol) 6-(3-benzamido-fenoxy)-3-E-[2-(1-(2-trimethylsilanylethoxy)methyl-imidazol-4-yl)ethenyl]-1H-indazolu v 5 ml THF bylo přidáno 6,0 ml (6,0 mmol) 1,0M TBAF v THF a 0,26 ml (3,86 mmol) ethylendiaminu. Po zahřívání v 70 °C po dobu 18 hodin byla reakční směs ochlazená, naředěna EtOAc a promyta opakovaně saturovaným roztokem NaHCO₃. Organická vrstva byla usušena nad MgSO₄ a koncentrována při sníženém tlaku. Zbytek byl podroben velmi rychlé chromatografii na silikagelu za eluce směsí CH₂Cl₂:EtOAc: MeOH (1:1:0,2). Získaný olej byl triturován ze směsí EtOAc a hexanu za vzniku 65 mg (40 %) AG13853. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 12,90 (s, 1H), 12,35 (s, 1H), 10,32 (s, 1H), 8,08 (d, 1H, J = 8,7 Hz), 7,91 (d, 2H, J = 6,8 Hz), 7,81 (s, 1H), 7,64-7,49 (m, 5H), 7,42-7,31 (m, 4H), 7,03 (s, 1H), 6,96 (d, 1H, J = 8,7 Hz), 6,85 (d, 1H, J = 8,1 Hz). Anal. výpočet pro C₂₅H₁₉N₅O₂ · 0,7 H₂O · 4,4 EtOAc: C, 68,07, H, 5,07, N, 14,92. Změřeno: C, 67,93, H, 4,89, N, 15,06.

Výchozí látka byla připraven podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 31(a) kromě toho, že hydrochlorid (E)-[1-(2-trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-imidazol-4-yl]akryloylchlorid byl použit namísto hydrochloridu (E)-3-pyridin-2-ylakryloylchloridu v kroku (i).

Příklad 32(b)

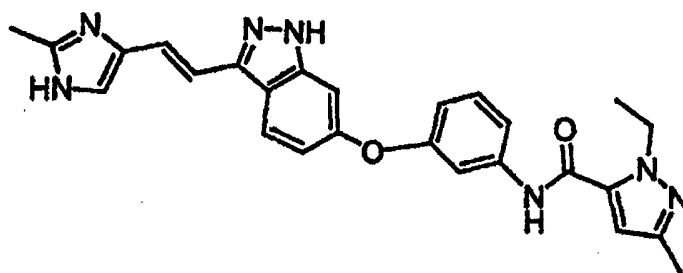
6-[3-((1-ethyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)fenoxy]-3-E-[2-(1H-imidazol-4-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 32(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 32(a) kromě toho, že 1-ethyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-karboxylová kyselina byla použita namísto benzoové kyseliny v kroku (ii). ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 12,89 (s, 1H), 12,37 (s, 1H), 10,18 (s, 1H), 8,07 (d, 1H, $J = 8,9$ Hz), 7,74 (s, 1H), 7,58 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz), 7,49 (s, 1H), 7,44-7,32 (m, 3H), 7,28 (s, 1H), 7,01 (s, 1H), 6,95 (d, 1H, $J = 8,9$ Hz), 6,86 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz), 6,78 (s, 1H), 4,38 (q, 2H, $J = 7,1$ Hz), 2,19 (s, 3H), 1,29 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz). Anal. výpočet pro $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{N}_7\text{O}_2 \cdot 0,8 \text{ H}_2\text{O} \cdot 0,1 \text{ EtOAc}$: C, 63,99, H, 5,37, N, 20,57. Změřeno: C, 63,72, H, 5,12, N, 20,25.

Příklad 32(c)

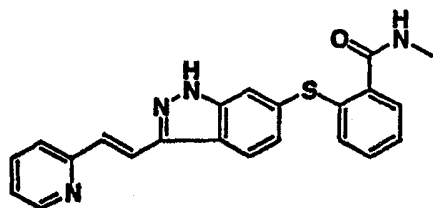
6-[3-((1-ethyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)fenoxy]-3-E-[2-(2-methylimidazol-4-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 32(c) byla připravena podobným způsobem, jako byl popsán pro příklad 32(b) kromě toho, že hydrochlorid (E)-3-[2-methyl-1-(2-trimethylsilanyl)ethoxymethyl)-1H-imidazol-4-yl]akryloylchlorid byl použit namísto hydrochloridu (E)-3-[1-(2-trimethylsilanyl)ethoxymethyl)-1H-imidazol-4-yl]akryloylchloridu v kroku (i). ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 12,85 (š s, 1H), 11,80 (š s, 1H), 10,18 (s, 1H), 8,05 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 7,58 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,48 (s, 1H), 7,39 (t, 1H, $J = 8,2$ Hz), 7,33-7,05 (m, 3H), 7,00 (s, 1H), 6,93 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 6,86 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz), 6,78 (s, 1H), 4,38 (q, 2H, $J = 7,1$ Hz), 2,31 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 1,29 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz). Anal. výpočet pro $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{N}_7\text{O}_2 \cdot 0,9 \text{ H}_2\text{O} \cdot 0,4 \text{ EtOAc}$: C, 63,87, H, 5,83, N, 18,89. Změřeno: C, 63,64, H, 5,76, N, 18,85.

Příklad 33(a)

6-[2-(methylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]indazol

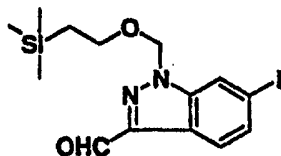


Sloučenina z příkladu 33(a) byla připravena z 6-[2-(methylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 11. R_f sm 0,8, p 0,15 (ethylacetát), ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,45 (s, 1H), 8,72 (d, 1H, $J = 3,9$ Hz), 8,47 (m, 1H), 8,31 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 8,06 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,92 (dt, 1H, $J = 1,7, 7,6$ Hz), 7,78 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz), 7,71 (s, 1H), 7,68 (d, 1H, $J = 16,5$ Hz), 7,61 (dd, 1H, $J = 1,7, 7,2$ Hz), 7,45-7,36 (m, 3H), 7,31

(d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,17 (m, 1H), 2,89 (d, 3H, $J = 4,6$ Hz), ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ 167,8, 154,8, 149,5, 141,9, 141,8, 137,0, 136,8, 135,4, 132,5, 130,2, 130,0, 129,2, 127,7, 126,1, 125,4, 123,5, 122,5, 122,4, 121,6, 120,2, 114,5, LCMS (100% oblast) $R_t = 3,5$ minut (poz) $[M+H]^+/z$ vypočteno 387, změřeno 387. Analyzováno s 0,1 H_2O , 0,1 EtOAc vypočteno: C (67,78), H (4,82), N (14,11), S (8,08). Změřeno: C (67,78), H (4,77), N (14,06), S (8,08).

Výchozí látka byla připravena takto:

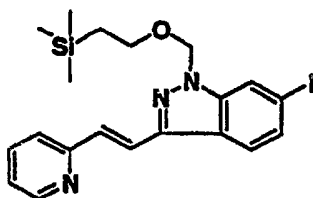
(i)



V argonové atmosféře bylo 30,0 g (62,9 mmol) 6-jod-3-styryl-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu, připraveného v příkladu 14, krok (i), rozpuštěno ve 375 ml dichlormethanu a bylo ochlazeno na -42°C v lázni s acetonitrilem a suchým ledem. Směsí pak byl probubláván ozón (1 l/min, 60 V, 1,8 A) po dobu 45 minut. Standardní indikátory neudávaly jasnou změnu barvy kvůli barvě pozadí roztoků. Aby se zabránilo nadměrné oxidaci, byl postup reakce monitorován TLC (1:9 směs EtOAc a hexanu). Přidávání ozónu bylo zastaveno a baňka byla naplněna argonem. Pak bylo přidáno 30 ml dimethylsulfidu a směs byla ponechána ohřát se na 23°C . Tato směs byla míchána po dobu 4 hodin a byla koncentrována při sníženém tlaku. Olej byl vložen do vysokého vakua po dobu 16 hodin. Zbytek byl rozpuštěn v 15 ml dichlormethanu a byl naředěn 100 ml hexanu za vzniku několika krystalů (nebyl požadovaný produkt). Směs byla filtrována a filtrát byl koncentrován. Zbytek byl rozpuštěn v 250 ml směsi 8:2 hexanu a EtOAc, podroben působení 50 ml silikagelu, filtrován a koncentrován. Po 72 hodinách za vysokého vakua vzniklo 24,17 g

(~95% čisté dle NMR, 91% výtěžek) 6-jod-3-karboxaldehyd-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu jako žluté pevné látky: R_f sm 0,34, p 0,29 (směs ethylacetátu a hexanu 1:9), ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 10,25 (s, 1H), 8,09 (s, 1H), 8,05 (d, 1H), 7,80 (d, 1H), 5,88 (s, 2H), 3,71 (t, 2H), 0,93 (t, 2H), 0,0 (s, 9H).

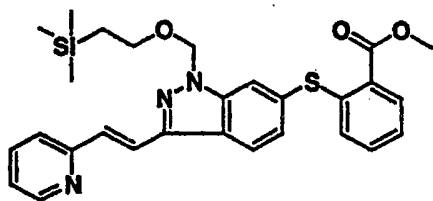
(ii)



24,0 g (59,7 mmol) 6-jod-3-karboxaldehyd-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu bylo rozpuštěno ve 350 ml THF a bylo ochlazeno na 5 °C. K této směsi bylo přidáno 45,7 g (100 mmol, 1,68 ekv.) pevného 2-pikolyltrienylfosfonium-chloridu/hydridu draselného. Reakční směs byla ponechána za míchání po dobu 45 minut. Ke směsi bylo přidáno 20 ml 3N HCl, následováno 50 ml saturovaného vodného hydrouhličitanu sodného za dosažení pH 6. Nadbytek THF byl odstraněn při sníženém tlaku a zbytek byl rozdělen mezi ethylacetát a vodu. Organické vrstvy byly promyty saturovaným vodným hydrouhličitanem sodným, vodou a organická vrstva byla oddělena, usušena nad sulfátem sodným, dekantována a koncentrována při sníženém tlaku. Zbytek byl nabrán do směsi ethylacetátu a hexanu 1:9 a byl filtrován. Filtrát byl purifikován chromatografií na silikagelu (2 l silikagelu, 20 až 30 až 50% směs ethylacetátu a hexanu) za vzniku 18,9 g (66% výtěžek) 6-jod-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu: R_f sm 0,52, p 0,25 (směs ethylacetátu a hexanu 2:8), ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,64 (m, 1H), 8,00 (d, 1H, $J = 0,7$

Hz), 7,87 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,80 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,69 (td, 1H, $J = 7,7, 1,8$ Hz), 7,55 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,55 (dd, 1H, $J = 8,5, 1,3$ Hz), 7,47 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz), 7,18 (dd, 1H, $J = 1,1, 4,8$ Hz), 5,70 (s, 2H), 3,59 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), 0,90 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), -0,04 (s, 9H), ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 156,8, 151,2, 144,2, 143,6, 138,0, 132,3, 132,2, 124,4, 124,0, 123,8, 123,7, 123,5, 120,7, 94,1, 79,4, 68,1, 19,17, 0,0.

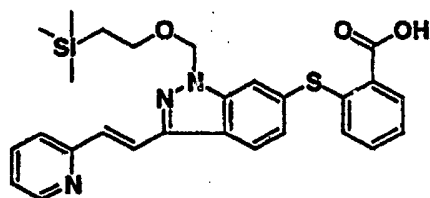
(iii)



V baňce s kulatým dnem o objemu 200 ml bylo odváženo 13,7 g (41,9 mmol, 2,5 ekv.) uhličitany cesného a tato sůl byla usušena za vysokého vakua a zahřívání horkovzdušnou pistolí. Pak bylo přidáno 1,37 g (1,68 mmol, 0,1 ekv.) katalyzátoru $[\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2\text{-CH}_2\text{Cl}_2]$ a 8,0 g (16,76 mmol) 6-jod-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu a směs byla nabrána do 71 ml DMF. K této směsi bylo přidáno 4,62 ml (33,5 mmol, 2,0 ekv.) methylthiosalicylátu a nádoba byla zahřívána na 85 °C po dobu 4,5 hodiny. Tato směs byla ochlazená na 23 °C, byla rozdělena mezi 350 ml ethylacetátu a 300 ml 50% saturovaného vodného hydrouhličitany sodného. Organické vrstvy byly promyty 200 ml 10% bisulfitu sodného, solankou a organická vrstva byla oddělena. Organická látka byla usušena nad sulfátem sodným, dekantována a koncentrována při sníženém tlaku. Purifikace chromatografií na silikagelu (500 ml silikagelu, 30 až 40 až 50% směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 6,44 g (74 %) 6-[(2-methoxykarbonylfenyl)sulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-

1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu: R_f sm 0,52, p 0,19 (směs ethylacetátu a hexanu 3:7), FTIR (tenký film) 2950, 2887, 2356, 1713, 1585, 1464, 1433, 1250, 1076, 837 cm^{-1} , ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,70 (d, 1H), 8,12 (d, 1H), 8,04 (d, 1H), 7,99 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,90 (s, 1H), 7,88 (t, 1H), 7,76 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,62 (d, 1H), 7,55 (d, 1H), 7,30-7,15 (m, 3H), 6,92 (d, 1H), 5,80 (s, 2H), 4,01 (s, 3H), 3,78 (t, 2H), 0,96 (t, 2H), -0,03 (s, 9H), ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 168,3, 156,8, 151,2, 144,3, 144,2, 143,2, 138,0, 133,8, 133,6, 132,5, 132,4, 129,9, 129,3, 128,5, 126,0, 124,7, 124,6, 123,8, 123,5, 118,3, 79,4, 68,2, 53,7, 19,2, 0,0, LCMS (100% oblast) $R_t = 4,4$ minutách (poz) $[M+H]/z$ vypočteno 518,2, změřeno 518,2.

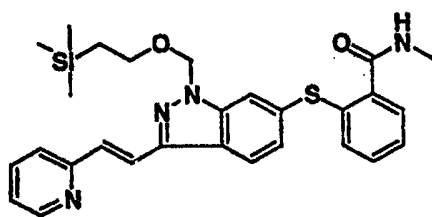
(iv)



K 8,50 g (16,4 mmol) 6-[(2-methoxykarbonylfenyl)sulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu bylo přidáno 120 ml THF, 120 ml methanolu, 120 ml vody a 15,9 g (115 mmol, 7,0 ekv.) uhličitanu draselného. Tato směs byla zahřívána na 67 °C a byla míchána po dobu 22 hodin. Směs byla ochlazena a nadbytek rozpouštědla byl odstraněn. Zbytek byl rozdělen mezi 300 ml ethylacetátu a 250 ml vody. Vodná vrstva byla acidifikována 20% kyselinou citronovou na pH 5 (~70 ml) a vodná vrstva byla odčerpána. Organická vrstva byla promyta 50 ml vody a bylo přidáno 100 ml hexanu, aby se pomohlo precipitaci krystalů, které byly vytvořeny v ethylacetátové vrstvě. Pevná látka byla filtrována a usušena za vzniku 7,56 g (91 %) 6-[(2-karboxyfenyl)-

sulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu: R_f sm 0,67, p 0,41 (směs ethylacetátu a hexanu 8:2), ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,60 (m, 1H), 8,10 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 8,04 (dd, 1H, $J = 1,7, 7,7$ Hz), 7,85 (d, 1H, $J = 16,5$ Hz), 7,83 (s, 1H), 7,70 (dt, 1H, $J = 1,7, 7,7$ Hz), 7,59 (d, 1H, $J = 16,5$ Hz), 7,52 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz), 7,38 (dd, 1H, $J = 1,3, 8,4$ Hz), 7,22-7,10 (m, 3H), 6,80 (dd, 1H, $J = 1,0, 8,0$ Hz), 3,59 (t, 2H, $J = 8,1$ Hz), 0,85 (t, 2H, $J = 8,81$ Hz), -0,1 (s, 9H).

(v)

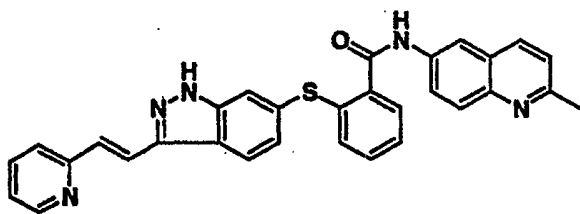


820 mg (1,63 mmol) 6-[(2-karboxyfenyl)sulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu bylo rozpuštěno v 5 ml DMF a bylo podrobeno působení 4,1 ml (8,13 mmol, 50 ekv.) methylaminu (2M v THF a 929 mg (2,44 mmol, 1,5 ekv.) HATU. Tato směs byla míchána po dobu 30 minut, byla rozdělena mezi ethylacetát a saturovaný vodný hydrouhličitán sodný a organická vrstva byla oddělena. Organická látka byla usušena nad sulfátem sodným, dekantována a koncentrována při sníženém tlaku. Purifikace chromatografií na silikagelu (50 ml silikagelu, 60 až 70% směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 795 mg (94 %) 6-[2-(methylkarbamoyl)-fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1-[2-(trimethylsilanyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu jako pevné látky: R_f sm 0,35, p 0,23 (směs ethylacetátu a hexanu 6:4), FTIR (tenký film) 3306, 2951, 1643, 1606, 1587, 1563, 1469, 1433, 1410, 1303, 1249, 1217, 1075, 836 cm^{-1} , ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,70 (m,

1H), 8,06 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,94 (d, 1H, $J = 16,3$ Hz), 7,74 (dt, 1H, $J = 1,8, 7,7$ Hz), 7,70-7,60 (m, 3H), 7,52 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz), 7,35-7,20 (m, 5H), 6,45 (š s, 1H), 5,80 (s, 2H), 3,62 (t, 2H), 3,00 (d, 3H), 0,93 (t, 2H), -0,05 (s, 9H), ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 179,7, 169,9, 156,8, 151,1, 144,2, 143,0, 138,1, 136,1, 135,4, 133,2, 132,2, 132,1, 130,2, 128,5, 127,2, 124,7, 124,1, 123,8, 123,5, 123,3, 114,9, 68,1, 28,2, 19,2, 0,00, LCMS (100% oblast) $R_t = 4,15$ minuty (poz) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 517,2, změřeno 517,2.

Příklad 33(b)

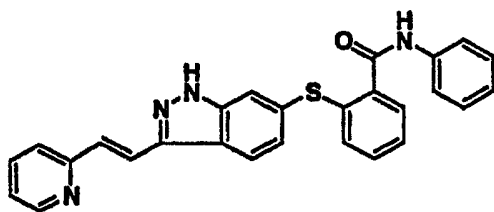
6-[2-(2-methylchinol-6-ylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 33(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 33(a) kromě toho, že v kroku (v), 6-amino-2-methylchinolin byl použit namísto methylaminu: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 10,2 (š s, 1H), 8,64 (m, 1H), 8,40 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,98-7,80 (m, 4H), 7,69 (dt, 1H, $J = 1,7, 7,7$ Hz), 7,55-7,40 (m, 7H), 7,25-7,16 (m, 3H), 2,71 (s, 3H).

Příklad 33(c)

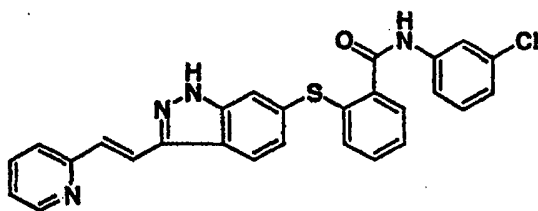
6-[2-(fenylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 33(c) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 33(a) kromě toho, že v kroku (v), anilin byl použit namísto methylaminu: ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,35 (s, 1H), 10,53 (s, 1H), 8,67 (m, 1H), 8,22 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz), 7,99 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,85 (dt, 1H, $J = 1,8, 7,6$ Hz), 7,80–7,55 (m, 5H), 7,45–7,10 (m, 9H), LCMS (100% oblast) $R_t = 3,86$, (poz) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 449,1, změřeno 449,1. Analyzováno s 0,41 H_2O , vypočteno: C (71,13), H (4,60), N (12,29), S (7,03). Změřeno: C (71,04), H (4,62), N (12,31), S (7,01).

Příklad 33(d)

6-[2-(3-chlorfenylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

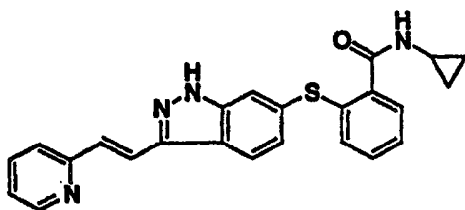


Sloučenina z příkladu 33(d) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 33(a) kromě toho, že v kroku (v), 3-chloranilin byl použit namísto methylaminu: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,53 (m, 1H), 7,92 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,77 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,68 (dt, 1H, $J = 1,7, 7,7$ Hz), 7,64–7,56 (m, 2H), 7,51–7,43 (m, 3H), 7,35–7,28 (m, 4H), 7,19–7,12 (m, 3H), 7,02 (m, 1H), LCMS (100% oblast) R_t 3,98 minuty (poz) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 483,1, změřeno 483,1. Analyzováno

s 0,3 H₂O, vypočteno: C (66,40), H (4,05), N (11,47), S (6,57).
 Změřeno: C (66,36), H (4,08), N (11,49), S (6,55).

Příklad 33(e)

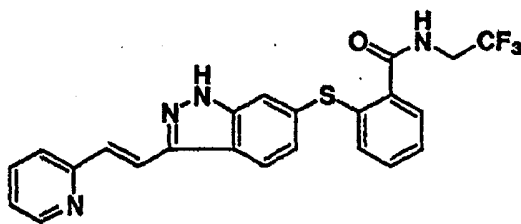
6-[2-(cyklopropylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 33(e) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 33(a) kromě toho, že v kroku (v), cyklopropylamin byl použit namísto methylaminu: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 13,45 (s, 1H), 8,73 (d, 1H, J = 3,9 Hz), 8,56 (d, 1H, J = 4,3 Hz), 8,31 (d, 1H, J = 8,5 Hz), 8,08 (d, 1H, J = 16,4 Hz), 7,91 (dt, 1H, J = 1,7, 7,7 Hz), 7,78 (d, 1H, J = 7,8 Hz), 7,70 (m, 2H), 7,57 (m, 1H), 7,40 (m, 3H), 7,30 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,20 (d, 1H, J = 7,8 Hz), 2,94 (m, 1H), 0,80 (m, 2H), 0,65 (m, 2H), LCMS (100% oblast) Rt 3,51 minuty (poz) [M+H]⁺/z vypočteno 413,1, změřeno 413,1.

Příklad 33(f)

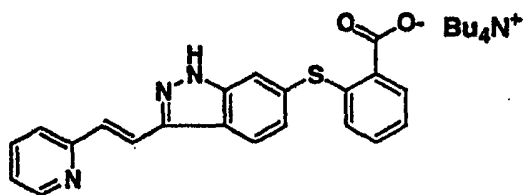
6-[2-(2,2,2-trifluorethylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 33(f) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 33(a) kromě toho, že v kroku (v), 2,2,2-trifluorethylamin byl použit namísto methylaminu: ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,5 (s, 1H), 9,29 (t, 1H, $J = 6,3$ Hz), 8,74 (m, 1H), 8,37 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz), 8,10 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,94 (dt, 1H, $J = 1,8, 7,6$ Hz), 7,80 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz), 7,75–7,65 (m, 3H), 7,55–7,40 (m, 3H), 7,33 (d, 1H), 7,22 (d, 1H), 4,22 (m, 2H), LCMS (100% oblast) $R_t = 3,70$ minuty (poz) $[M+H]^+/z$ vypočteno 455,1, změřeno 455,1.

Příklad 33(g)

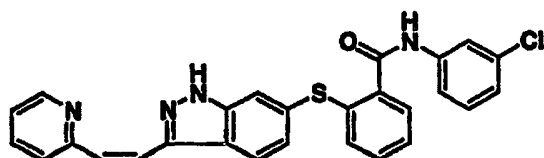
Tetrabutylamonium-6-[2-(karboxy)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazolu



Sloučenina z příkladu 33(g) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 33(a) kromě toho, že byl vynechán krok (v): R_f sm 0,41, p 0,0 (směs ethylacetátu a hexanu 8:2), ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8,75 (m, 1H), 8,25 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz), 8,05 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,88 (dt, 1H, $J = 1,8, 7,8$ Hz), 7,83–7,60 (m, 4H), 7,33 (m, 2H), 7,16 (m, 2H), 6,70 (m, 1H), 3,30 (m, 8H), 1,70 (m, 8H), 1,42 (m, 8H), 1,05 (t, 12H), LCMS (100% oblast) R_t 3,24 (poz) $[M+H]^+/z$ vypočteno 374,1, změřeno 374,1. Analyzováno s 0,1 H_2O , vypočteno: C (72,07), H (8,21), N (9,09), S (5,20). Změřeno: C (72,04), H (8,29), N (9,06), S (5,12).

Příklad 33(h)

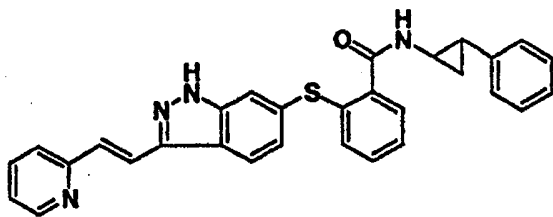
6-[2-(3-chlorfenylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-Z-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 33(h) byla připravena stejnou reakcí jako sloučenina z příkladu 33(d). Je nutné poznamenat, že ačkoliv tato sloučenina byla izolována a charakterizována jako čistá, bylo zjištěno, že vytvářela izomer k příkladu 33(d) v podmínkách testu. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,82 (m, 1H), 8,31 (s, 1H), 7,86 (m, 2H), 7,77 (m, 2H), 7,61 (t, 1H, $J = 2,0$ Hz), 7,46 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,33 (m, 5H), 7,21 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,13 (dd, 1H, $J = 1,5, 8,1$ Hz), 7,08 (m, 1H), 6,98 (d, 1H, $J = 13,0$ Hz), 6,66 (d, 1H, $J = 13,1$ Hz), LCMS (100% oblast) Rt 4,40 minuty (poz) $(\text{M}+\text{H})/\text{z}$ vypočteno 483,1, změřeno 483,1. Analyzováno s 0,3 H_2O , vypočteno: C (66,40), H (4,05), N (11,47), S (6,57). Změřeno: C (66,36), H (4,08), N (11,49), S (6,55).

Příklad 34

6-[2-((RS-(trans-2-fenylcyklopropyl)karbamoyl)fenylsulfanyl)-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

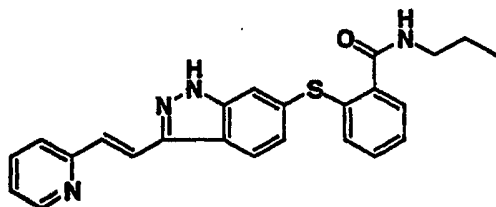


Sloučenina z příkladu 33(g) byla konvertována na sloučeninu z příkladu 34 podobným způsobem, jak bylo popsáno

v příkladu 33(a), krok (v), kromě toho, že trans-2-fenylcyklopropylamin byl použit namísto methylaminu: FTIR (tenký film) 1704, 1638, 1584, 1559, 1530, 1497, 1460, 1430, 1339, 1306, 1269, 1223, 1152, 1086, 1061, 966, 844 cm^{-1} , ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 13,3 (s, 1H), 8,71 (d, 1H, $J = 4,4$ Hz), 8,61 (d, 1H, $J = 3,9$ Hz), 8,20 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,96 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,81 (dt, 1H, $J = 1,7, 7,6$ Hz), 7,66 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz), 7,59-7,50 (m, 3H), 7,37-7,25 (m, 5H), 7,21-7,08 (m, 5H), 3,01 (m, 1H), 2,03 (m, 1H), 1,25 (m, 2H), LCMS (100% oblast) $R_t = 3,72$ minuty (poz) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 489,2, změřeno 489,2. Analyzováno s 0,6 MeOH, 0,16 CH_2Cl_2 vypočteno: C (70,86), H (5,17), N (10,75), S (6,15). Změřeno: C (70,87), H (5,18), N (10,75), S (5,96).

Příklad 35(a)

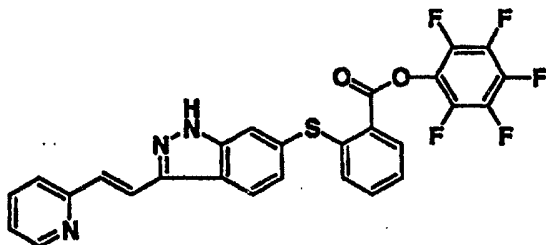
6-[2-(n-propylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol



60 mg (0,1112 mmol) 6-[2-(pentafluorfenoxycarbonyl)-fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazolu bylo rozpuštěno v 0,8 ml DMF, podrobno působení 11 μl (0,1335 mmol) n-propylaminu a mícháno při teplotě místnosti. HPLC analýza po 15 minutách prokázala, že všechna výchozí látka byla spotřebována. Reakční směs byla koncentrována na rotační odparce za vysokého vakua, za vzniku pevné látky. Pevná látka byla sonikována s CH_2Cl_2 za vzniku jemné suspenze, která byla filtrována a promyta CH_2Cl_2 za vzniku 40 mg (87% výtěžek) sloučeniny uvedené v názvu. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 13,31 (s, 1H),

8,60 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 8,41 (t, $J = 6,2$ Hz, 1H), 8,19 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,94 (m, 3H), 7,81 (dt, $J = 1,7, 7,5$ Hz, 1H), 7,66 (t, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,56 (m, 2H), 7,47 (m, 1H), 7,30 (m, 3H), 7,18 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 3,20 (q, $J = 6,0$ Hz, 2H), 1,55 (septet, $J = 5,9$ Hz, 2H), 0,92 (t, $J = 6,0$ Hz, 3H). Anal. výpočet pro $C_{24}H_{22}N_4OS \cdot (1,5 H_2O, 0,8 DMF)$: C, 63,41, H, 6,17, N, 13,45, S, 6,41. Změřeno: C, 63,37, H, 5,68, N, 13,44, S, 6,32.

Výchozí látka byla připravena takto:

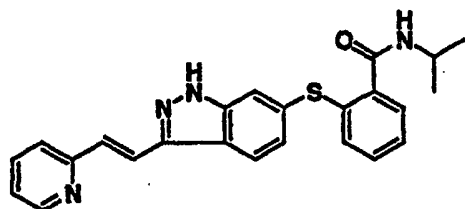


Roztok 615 mg (1,0 mmol) tetrabutylamonium-6-(2-karboxyfenylsulfanyl)-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazolu rozpuštěné v 10,0 ml suchého DMF byl podroben působení 89 μ l (1,1 mmol) pyridinu a 206 μ l (1,2 ekv.) pentafluorfenyltrifluoracetátu, při teplotě místnosti, v argonové atmosféře. HPLC analýza po 45 minutách prokázala hlavně nezreagovanou karboxylovou kyselinu, takže bylo přidáno dalších 89 μ l (1,1 mmol) pyridinu a 206 μ l (1,2 ekv.) pentafluorfenyltrifluoracetátu. HPLC analýza 15 minut později ukázala, že výchozí kyselina byla zcela spotřebována. Reakční směs byla koncentrována za vysokého vakua na rotační odparce, pak triturována CH_2Cl_2 (~1 ml), což způsobilo vytvoření krystalů, které byly sbírány filtrací, promyty dalším CH_2Cl_2 a usušeny. Hmotnost jasně žlutých krystalů byla 336 mg. Zbylý filtrát byl koncentrován a purifikován velmi rychlou chromatografií (10% směs acetonitrilu a CH_2Cl_2 až 80% směs acetonitrilu a CH_2Cl_2), poskytující dalších 70 mg pevné látky. Celkový výtěžek 6-[2-(pentafluorfenoxycarbonyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-

yl)ethenyl]-1H-indazolu bylo 406 mg neboli 89 %. ^1H NMR (CDCl_3) δ 10,22 (1H, bs), 8,66 (1H, d, $J = 4,5$ Hz), 8,28 (2H, dd, $J = 7,7$, 1,5 Hz), 8,15 (1H, d, $J = 8,5$ Hz), 7,97 (1H, d, $J = 16,2$ Hz), 7,79 (1H, s), 7,15-7,75 (7H, m), 6,92 (1H, d, $J = 8,1$ Hz).

Příklad 35(b)

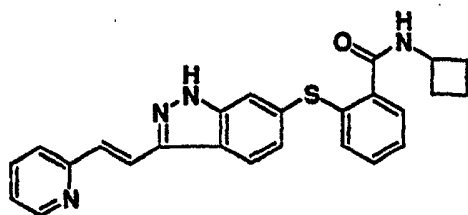
6-[2-(i-propylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že isopropylamin byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 13,30 (s, 1H), 8,60 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 8,26 (d, $J = 7,34$ Hz, 1H), 8,19 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 7,94 (d, $J = 16,4$ Hz, 1H), 7,80 (dt, $J = 1,7$, 7,5 Hz, 1H), 7,66 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 7,56 (m, 2H), 7,45 (m, 1H), 7,30 (m, 3H), 7,18 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,08 (m, 1H), 4,04 (septet, $J = 7,4$ Hz, 1H), 1,15 (d, $J = 6,6$ Hz, 6H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{OS} \cdot 1,7 \text{ H}_2\text{O}$: C, 64,75, H, 5,75, N, 12,59, S, 7,20. Změřeno: C, 64,79, H, 5,36, N, 12,74, S, 7,08.

Příklad 35(c)

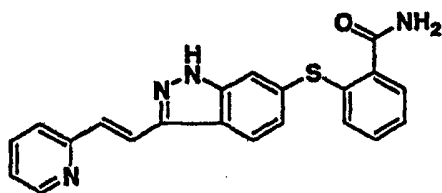
6-[2-(cyklobutylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(c) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že cyklobutylamin byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,31 (s, 1H), 8,62 (m, 2H), 8,19 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,94 (m, 2H), 7,80 (dt = 1,7, 7,5 Hz, 1H), 7,65 (t, J = 8,1 Hz, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,47 (m, 1H), 7,30 (m, 3H), 7,17 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 4,36 (septet, J = 8,1 Hz, 1H), 2,22 (m, 2H), 2,03 (m, 2H), 1,67 (m, 2H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{OS}$ · (0,5 H_2O , 0,9 DMF): C, 66,36, H, 5,89, N, 13,69, S, 6,40. Změřeno: C, 66,21, H, 5,78, N, 13,82, S, 6,36.

Příklad 35(d)

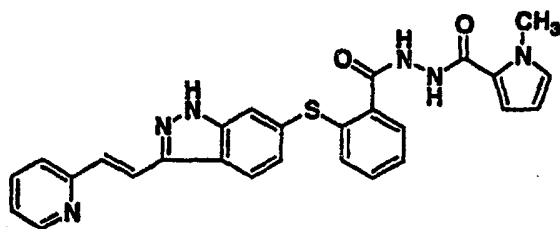
6-(2-karbamoylfenylsulfanyl)-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(d) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že čpavek byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 8,60 (d, J = 4,9 Hz, 1H), 8,21 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,94 (m, 3H), 7,81 (dt, J = 1,7, 7,5 Hz, 1H), 7,60 (m, 4H), 7,48 (š s, 1H), 7,25 (m, 4H), 7,0 (m, 1H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{OS}$ · 0,25 H_2O : C, 66,91, H, 4,41, N, 14,86, S, 8,51. Změřeno: C, 66,99, H, 4,40, N, 15,10, S, 8,49.

Příklad 35(e)

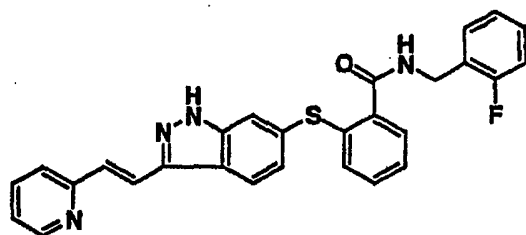
6-[2-((1-methylpyrol-2-ylhydrazido)karbonyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(e) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že 1-methylpyrol-2-ylhydrazid byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,34 (s, 1H), 10,25 (s, 1H), 10,45 (s, 1H), 8,60 (d, J = 4,5 Hz, 1H), 8,22 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,95 (d, J = 16,2 Hz, 1H), 7,81 (dt, J = 1,7, 7,5 Hz, 1H), 7,66 (m, 3H), 7,57 (d, J = 16,0 Hz, 1H), 7,43-7,18 (m, 4H), 7,07 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,00 (d, J = 3,4 Hz, 2H), 6,07 (t, J = 3,2 Hz, 1H), 3,88 (s, 3H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_2\text{S} \cdot 0,6 \text{ H}_2\text{O}$: C, 64,17, H, 4,63, N, 16,63, S, 6,34. Změřeno: C, 64,24, H, 4,48, N, 16,56, S, 6,28.

Příklad 35(f)

6-[2-((2-fluorbenzyl)methylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

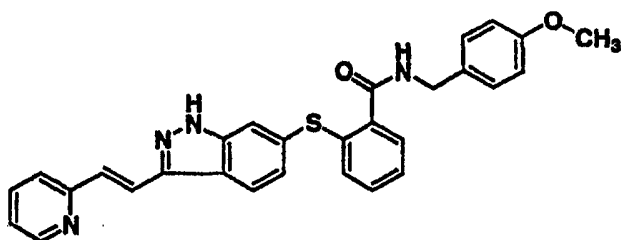


Sloučenina z příkladu 35(f) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že 2-fluorbenzylamin byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR

(DMSO- d_6) δ 13,31 (s, 1H), 8,99 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 8,61 (d, J = 4,5 Hz, 1H), 8,19 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,94 (d, J = 16,2 Hz, 1H), 7,81 (dt, J = 1,7, 7,5 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,56 (m, 3H), 7,47 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 7,31 (m, 4H), 7,15 (m, 4H), 4,51 (d, J = 5,7 Hz, 2H). Anal. výpočet pro $C_{28}H_{21}FN_4OS \cdot 0,25 H_2O$: C, 69,33, H, 4,47, N, 11,55, S, 6,61. Změřeno: C, 69,32, H, 4,41, N, 11,58, S, 6,59.

Příklad 35(g)

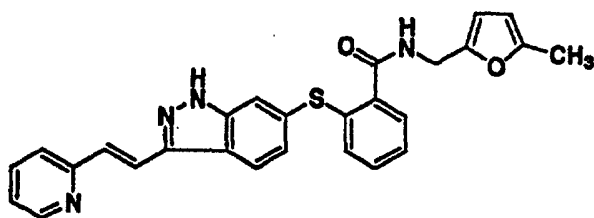
6-[2-((4-methoxybenzyl)methylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(g) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že 4-methoxybenzylamin byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,31 (s, 1H), 8,90 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 8,60 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 8,19 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,95 (d, J = 16,3 Hz, 1H), 7,81 (dt, J = 1,7, 7,5 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,55 (m, 3H), 7,30 (m, 5H), 7,18 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,10 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 4,39 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 3,72 (s, 3H). Anal. výpočet pro $C_{29}H_{24}N_4O_2S \cdot 0,6 H_2O$: C, 69,19, H, 5,05, N, 11,13, S, 6,37. Změřeno: C, 69,12, H, 4,85, N, 11,24, S, 6,35.

Příklad 35(h)

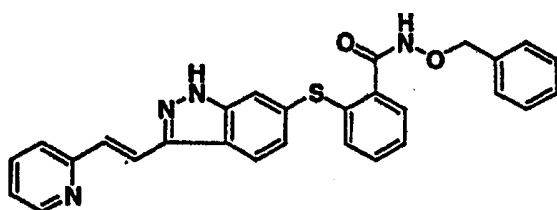
6-[2-((5-methylfur-2-yl)methylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(h) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že 5-methylfur-2-ylamin byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,31 (s, 1H), 8,88 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 8,60 (d, J = 4,3 Hz, 1H), 8,19 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,95 (d, J = 16,3 Hz, 1H), 7,81 (dt, J = 1,7, 7,5 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,54 (m, 3H), 7,30 (m, 4H), 7,18 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,06 (d, J = 8,1 Hz, 3H). Anal. výpočet, pro $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_2\text{S} \cdot 0,4 \text{ H}_2\text{O}$: C, 68,45, H, 4,85, N, 11,83, S, 6,77. Změřeno: C, 68,35, H, 4,80, N, 11,85, S, 6,68.

Příklad 35(i)

6-[2-(benzyloxykarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol

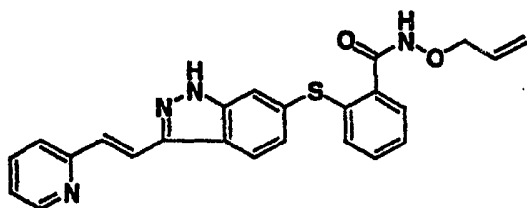


Sloučenina z příkladu 35(i) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že O-benzylhydroxylamin byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,31 (s, 1H), 11,64 (s, 1H), 8,90 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 8,60 (d, J = 4,1 Hz, 1H), 8,19 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,95 (d, J = 16,3 Hz, 1H), 7,81 (dt, J = 1,7, 7,5 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,56 (m, 2H), 7,50-7,24 (m, 9H), 7,17 (t, J = 8,5 Hz, 2H), 4,94 (s, 2H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_2\text{S} \cdot 0,8$

H₂O: C, 68,22, H, 4,83, N, 11,37, S, 6,50. Změřeno: C, 68,08, H, 4,65, N, 11,41, S, 6,47.

Příklad 35(j)

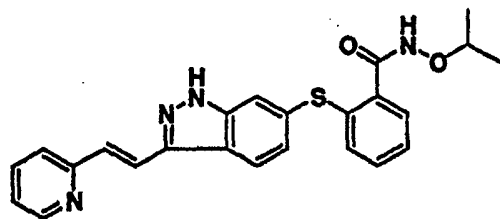
6-[2-(allyloxykarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(j) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že O-allylhydroxylamin byl použit namísto n-propylaminu. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 13,32 (s, 1H), 11,56 (s, 1H), 8,60 (d, J = 4,1 Hz, 1H), 8,19 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,95 (d, J = 16,5 Hz, 1H), 7,81 (dt, J = 1,7, 7,5 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,56 (m, 2H), 7,48-7,24 (m, 5H), 7,16 (m, 2H), 6,00 (m, 1H), 5,37 (d, J = 18,3 Hz, 1H), 5,27 (d, J = 11,3 Hz, 1H), 4,42 (d, J = 6,0 Hz, 1H). Anal. výpočet pro C₂₄H₂₀N₄O₂S · (0,2 H₂O, 0,2 CH₂Cl₂): C, 65,35, H, 4,96, N, 12,10, S, 6,92. Změřeno: C, 65,24, H, 4,50, N, 12,56, S, 7,17.

Příklad 35(k)

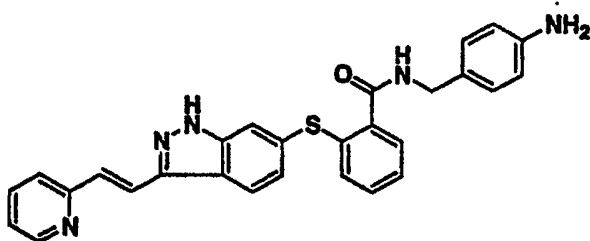
6-[2-(isopropoxykarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(k) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že O-isopropylhydroxylamin byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 13,30 (s, 1H), 11,33 (s, 1H), 8,60 (d, $J = 4,1$ Hz, 1H), 8,19 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 7,95 (d, $J = 16,5$ Hz, 1H), 7,81 (dt, $J = 1,7, 7,5$ Hz, 1H), 7,66 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,55 (m, 2H), 7,48-7,24 (m, 4H), 7,17 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 4,12 (septet, $J = 5,7$ Hz, 1H), 1,21 (d, $J = 6,2$ Hz, 6H. Anal. výpočet pro $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_2\text{S} \cdot (0,4 \text{ H}_2\text{O}, 0,7 \text{ CH}_2\text{Cl}_2)$: C, 59,67, H, 4,91, N, 11,27, S, 6,45. Změřeno: C, 59,61, H, 4,81, N, 11,42, S, 6,45.

Příklad 35(l)

6-[2-((4-aminobenzyl)methylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

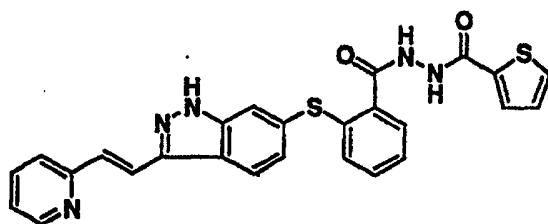


Příklad 35(l) byl připraven podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že 4-aminobenzylamin byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 13,31 (s, 1H), 8,78 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 8,60 (d, $J = 4,3$ Hz, 1H), 8,19 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,95 (d, $J = 16,3$ Hz, 1H), 7,85 (š s, 1H), 7,81 (dt, $J = 1,7, 7,5$ Hz, 1H), 7,66 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,51 (m, 2H), 7,30 (m, 3H), 7,19 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,05 (m, 3H), 6,56 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,51 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 4,29 (d, $J = 6,0$ Hz, 2H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{28}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{OS}$ ·

0,6 H₂O: C, 68,86, H, 4,99, N, 14,34, S, 6,57. Změřeno: C, 68,83, H, 4,80, N, 14,16, S, 6,52.

Příklad 35(m)

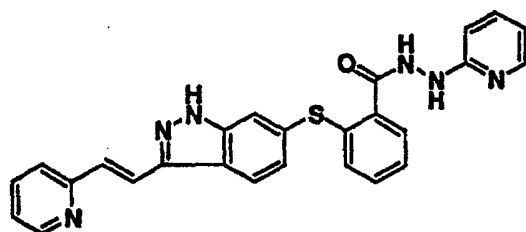
6-[2-((thien-2-ylhydrazido) karbonyl) fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(m) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že thien-2-ylhydrazid byl použit namísto n-propylaminu. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 13,49 (š s, 1H), 10,64 (s, 1H), 10,47 (s, 1H), 8,66 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 8,22 (d, J = 85 Hz, 1H), 8,08-7,82 (m, 5H), 7,66 (m, 3H), 7,39 (m, 3H), 7,24 (m, 2H), 7,09 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,00 (d, J = 3,4 Hz, 2H), 6,07 (t, J = 3,2 Hz, 1H), 3,88 (s, 3H). Anal. výpočet pro C₂₆H₁₉N₅O₂S₂ · 1,5 H₂O: C, 59,52, H, 4,23, N, 13,35, S, 12,22. Změřeno: C, 59,56, H, 4,42, N, 13,33, S, 11,75.

Příklad 35(n)

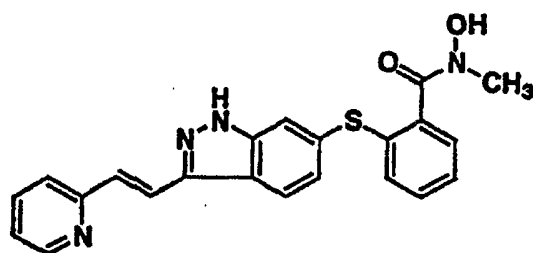
6-[2-(N²-(pyrid-2-ylhydrazino) karbonyl) fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(n) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že 2-hydrazinopyridin byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO) δ 13,31 (s, 1H), 10,30 (s, 1H), 8,60 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,21 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 8,09 (d, J = 4,9 Hz, 1H), 7,94 (d, J = 16,4 Hz, 1H), 7,81 (dt, J = 1,7, 7,5 Hz, 1H), 7,67 (m, 1H), 7,62-7,47 (m, 3H), 7,40 (m, 2H), 7,31 7,12 (m, 3H), 6,73 (m, 2H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{OS} \cdot 0,3 \text{ H}_2\text{O}$: C, 66,45, H, 4,42, N, 17,88, S, 6,82. Změřeno: C, 66,33, H, 4,50, N, 17,78, S, 6,60.

Příklad 35(o)

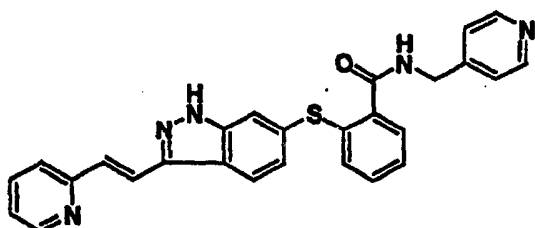
6-[2-(N-hydroxy-N-methylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(o) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že N-methylhydroxylamin byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 13,24 (s, 1H), 9,94 (s, 1H), 8,60 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 8,14 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,92 (d, J = 16,2 Hz, 1H), 7,80 (dt, J = 1,7, 7,5 Hz, 1H), 7,65 (t, J = 8,5 Hz, 1H), 7,54 (d, J = 16,5 Hz, 1H), 7,47-7,24 (m, 6H), 7,16 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 3,24 (š s, 1H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2\text{S} \cdot (0,5 \text{ H}_2\text{O}, 0,3 \text{ CH}_2\text{Cl}_2)$: C, 61,29, H, 4,52, N, 12,82, S, 7,34. Změřeno: C, 61,24, H, 4,33, N, 12,67, S, 7,34.

Příklad 35(p)

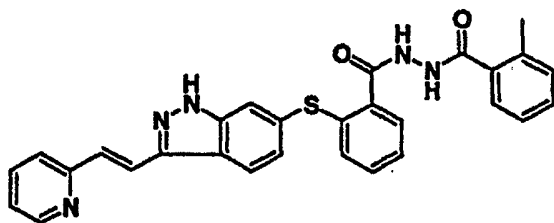
6-[2-((pyrid-4-yl)methylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(p) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že 4-aminomethylpyridin byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,31 (š s, 1H), 9,07 (t, J = 6,8 Hz, 1H), 8,60 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 8,48 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 8,19 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,95 (d, J = 16,4 Hz, 1H), 7,80 (dt, J = 1,7, 7,5 Hz, 1H), 7,68-7,52 (m, 3H), 7,42 (m, 2H), 7,39-7,31 (m, 3H), 7,27 (m, 1H), 7,20 7,10 (m, 2H), 4,48 (d, J = 6,2 Hz, 2H).

Příklad 35(q)

6-[2-((2-methylfenylhydrazido)karbonyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

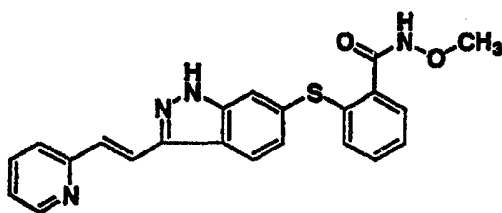


Sloučenina z příkladu 35(q) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že 2-methylfenylhydrazid byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,43 (š s, 1H), 10,45 (s, 1H), 10,28 (s, 1H), 8,64 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 8,22 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 8,01 (d, J = 16,6 Hz, 1H), 7,92 (m, 1H), 7,81 (m, 1H), 7,69 (m, 1H), 7,60

(d, $J = 16,4$ Hz, 1H), 7,50-7,22 (m, 8H), 7,07 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 2,45 (s, 3H).

Příklad 35(r)

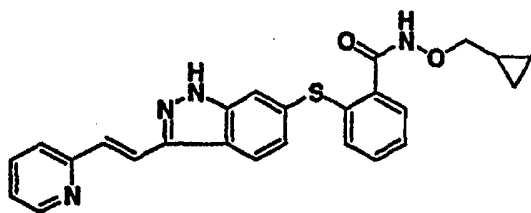
6-[2-(methoxykarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(r) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že O-methylhydroxylamin byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,32 (s, 1H), 11,60 (s, 1H), 8,60 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H), 8,19 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,95 (d, $J = 16,2$ Hz, 1H), 7,81 (dt, $J = 1,7, 7,5$ Hz, 1H), 7,66 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,56 (m, 2H), 7,47 (dd, $J = 7,4, 1,7$ Hz, 1H), 7,43-7,24 (m, 3H), 7,17 (m, 2H), 3,72 (s, 3H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2\text{S} \cdot 0,6 \text{CH}_2\text{Cl}_2$: C, 59,86, H, 4,27, N, 12,36, S, 7,07. Změřeno: C, 59,94, H, 4,40, N, 12,00, S, 6,80.

Příklad 35(s)

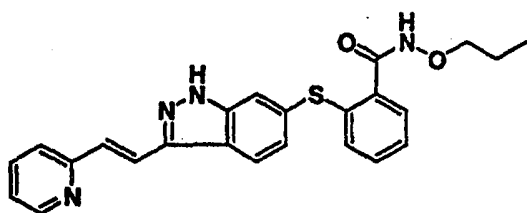
6-[2-((cyklopropyl)methoxykarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(s) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že O-cyklopropylhydroxylamin byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 13,38 (s, 1H), 11,51 (s, 1H), 8,64 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H), 8,18 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 8,00 (d, $J = 16,4$ Hz, 1H), 7,86 (m, 2H), 7,63–7,52 (m, 2H), 7,49–7,29 (m, 4H), 7,17 (m, 2H), 3,70 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 1,10 (m, 1H), 0,53 (m, 2H), 0,27 (m, 2H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_2\text{S} \cdot 1,6 \text{ H}_2\text{O}$: C, 63,70, H, 5,39, N, 11,89, S, 6,80. Změřeno: C, 63,58, H, 4,95, N, 11,71, S, 6,66.

Příklad 35(t)

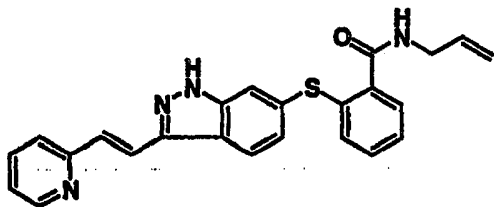
6-[2-(n-propoxykarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(t) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že O-n-propylhydroxylamin byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 13,31 (s, 1H), 11,48 (s, 1H), 8,60 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H), 8,19 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,95 (d, $J = 16,2$ Hz, 1H), 7,81 (dt, $J = 1,7, 7,5$ Hz, 1H), 7,66 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,60–7,52 (m, 2H), 7,49–7,24 (m, 4H), 7,17 (m, 2H), 3,84 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H), 1,62 (septet, $J = 6,4$ Hz, 2H), 0,92 (t, $J = 6,1$ Hz, 3H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_2\text{S} \cdot (0,5 \text{ H}_2\text{O}, 0,25 \text{ CH}_2\text{Cl}_2)$: C, 63,21, H, 5,14, N, 12,16, S, 6,96. Změřeno: C, 63,15, H, 5,13, N, 12,17, S, 6,99.

Příklad 35(u)

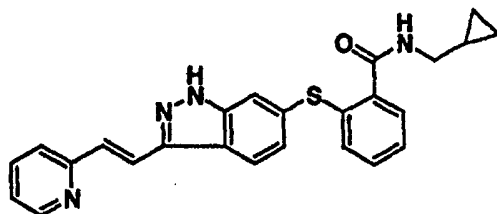
6-[2-(allylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(u) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že allylamin byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 13,31 (s, 1H), 8,60 (m, 2H), 8,19 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,93 (d, $J = 16,3$ Hz, 3H), 7,79 (dt, $J = 1,7, 7,5$ Hz, 1H), 7,64 (m, 1H), 7,60–7,48 (m, 3H), 7,37–7,23 (m, 3H), 7,17 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,07 (m, 1H), 5,87 (m, 1H), 5,25 (dq, $J = 17,33, 1,9$ Hz, 1H), 5,09 (dq, $J = 10,2, 1,9$ Hz, 1H), 3,87 (m, 2H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{OS} \cdot 0,8 \text{ CH}_2\text{Cl}_2$: C, 62,00, H, 4,53, N, 11,66, S, 6,67. Změřeno: C, 62,08, H, 4,73, N, 11,99, S, 6,66. MALDI FTMS (MH^+) vypočteno: 413,1431, změřeno 413,1449.

Příklad 35(v)

6-[2-(cyklopropylmethylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

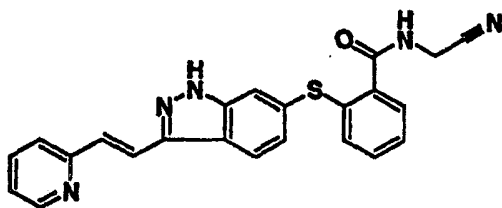


Sloučenina z příkladu 35(v) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že cyklopropylmethylamin byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR

(DMSO- d_6) δ 13,30 (s, 1H), 8,60 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 8,48 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 8,17 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,90 (d, J = 16,4 Hz, 1H), 7,80 (dt, J = 1,7, 7,5 Hz, 1H), 7,67-7,45 (m, 4H), 7,33-7,23 (m, 3H), 7,18 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,06 (m, 1H), 3,13 (t, J = 6,2 Hz, 2H), 1,00 (m, 1H), 0,41 (m, 1H), 0,24 (m, 1H). Anal. výpočet pro $C_{25}H_{22}N_4OS \cdot 0,5 CH_2Cl_2$: C, 65,30, H, 4,94, N, 11,95, S, 6,84. Změřeno: C, 65,10, H, 4,93, N, 12,04, S, 6,82. MALDI FTMS (MH^+) vypočteno 427,1587, změřeno 427,1605.

Příklad 35(w)

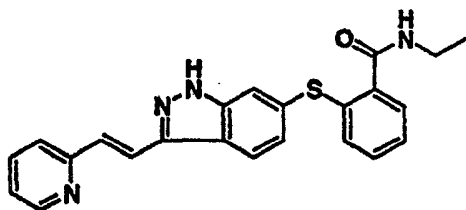
6-[2-(kyanomethylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(w) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že aminoacetonitril byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,35 (s, 1H), 9,19 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 8,60 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 8,20 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,94 (d, J = 16,4 Hz, 3H), 7,79 (dt, J = 1,7, 7,5 Hz, 1H), 7,70-7,50 (m, 4H), 7,41-7,23 (m, 3H), 7,18 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,06 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 4,32 (d, J = 5,5 Hz, 2H). MALDI FTMS (MH^+) vypočteno 412,1227, změřeno 412,1215.

Příklad 35(x)

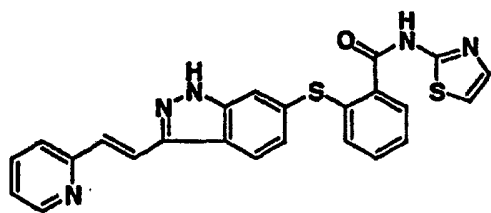
6-[2-(ethylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(x) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že ethylamin byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 8,60 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 8,40 (t, $J = 6,2$ Hz, 1H), 8,18 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,94 (m, 3H), 7,81 (dt, $J = 1,7, 7,5$ Hz, 1H), 7,68-7,44 (m, 3H), 7,56 (m, 2H), 7,30 (m, 3H), 7,17 (dd, $J = 8,1, 1,8$ Hz, 1H), 7,06 (m, 1H), 3,24 (m, 2H), 1,11 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{OS} \cdot (1,75 \text{ H}_2\text{O}, 1,0 \text{ DMF})$: C, 61,82, H, 6,09, N, 13,87, S, 6,35. Změřeno: C, 61,58, H, 5,66, N, 13,96, S, 5,93. MALDI FTMS (MH^+) vypočteno 401,1431, změřeno 401,1417.

Příklad 35(y)

6-[2-(thiazol-2-ylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

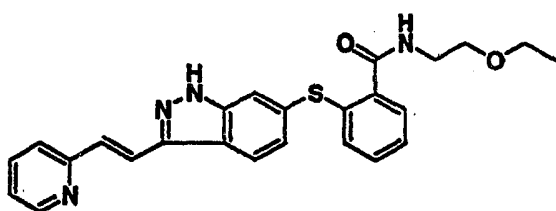


Sloučenina z příkladu 35(y) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že 2-aminothiazol byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 13,32 (s, 1H), 12,67 (s, 1H), 8,60 (d, $J = 4,1$ Hz, 1H), 8,18 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,93 (d, $J = 16,3$ Hz, 1H), 7,80 (dt, $J = 1,7, 7,5$ Hz, 1H), 7,65 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,65 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 7,60-7,51 (m, 3H), 7,49-7,34 (m, 2H), 7,26

(m, 2H), 7,18 (m, 2H). Anal. výpočet pro $C_{24}H_{17}N_5OS_2 \cdot 0,75 H_2O$: C, 61,45, H, 3,98, N, 14,93, S, 13,67. Změřeno: C, 61,35, H, 4,10, N, 14,96, S, 13,68.

Příklad 35(z)

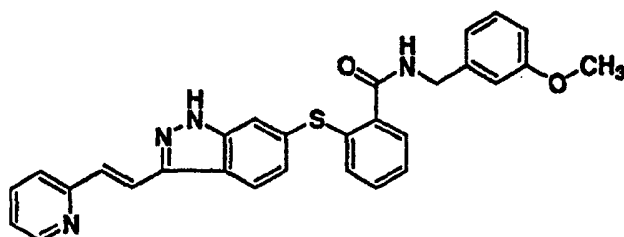
6-[2-(2-(ethoxy)ethylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(z) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že 2-ethoxyethylamin byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,30 (s, 1H), 8,60 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 8,45 (t, $J = 6,2$ Hz, 1H), 8,18 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,93 (m, 2H), 7,80 (dt, $J = 1,7, 7,5$ Hz, 1H), 7,65 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 7,60-7,45 (m, 3H), 7,36-7,23 (m, 3H), 7,17 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 7,07 (m, 1H), 3,50 (m, 6H), 1,10 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H). Anal. výpočet pro $CH_2N_4O_2S_{0,5} CH_2Cl_2$: C, 62,89, H, 5,17, N, 11,50, S, 6,58. Změřeno: C, 62,45, H, 5,33, N, 11,25, S, 6,55.

Příklad 35(aa)

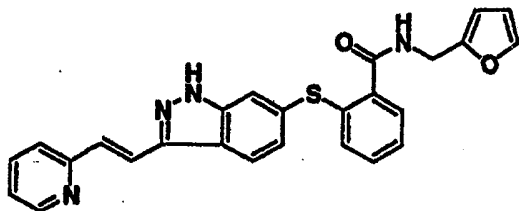
6-[2-((3-methoxybenzyl)methylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(aa) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že 3-methoxybenzylamin byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,30 (s, 1H), 8,97 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 8,60 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 8,18 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,93 (d, J = 16,3 Hz, 1H), 7,80 (dt, J = 1,7, 7,5 Hz, 1H), 7,65 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,60-7,51 (m, 3H), 7,38-7,15 (m, 5H), 7,08 (m, 1H), 6,94 (m, 2H), 6,80 (dd, J = 8,1, 1,5 Hz, 1H), 4,44 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 3,71 (s, 3H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{29}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_2\text{S} \cdot 0,4 \text{ H}_2\text{O}$: C, 60,25, H, 4,50, N, 17,57, S, 8,04. Změřeno: C, 60,14, H, 4,47, N, 17,42, S, 8,00.

Příklad 35(bb)

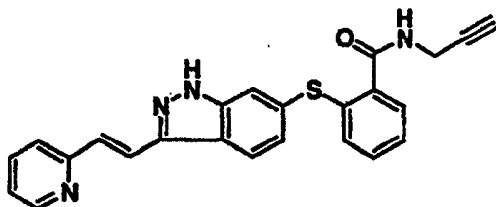
6-[2-((fur-2-yl)methylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(bb) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že 2-aminomethylfuran byl použit namísto n-propylaminu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,31 (s, 1H), 8,93 (t, J = 5,7 Hz, 1H), 8,60 (d, J = 4,3 Hz, 1H), 8,19 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,93 (d, J = 16,5 Hz, 1H), 7,80 (dt, J = 1,9, 7,4 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,59-7,48 (m, 4H), 7,30 (m, 4H), 7,37-7,24 (m, 3H), 7,18 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,06 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,40 (m, 1H), 6,31 (m, 1H), 4,44 (d, J = 5,3 Hz, 2H). Anal. výpočet. Nebo $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2\text{S} \cdot (0,1 \text{ H}_2\text{O}, 0,75 \text{ CH}_2\text{Cl}_2)$: C, 62,02, H, 4,22, N, 10,82, S, 6,19. Změřeno: C, 61,58, H, 4,30, N, 10,55, S, 6,12.

Příklad 35(cc)

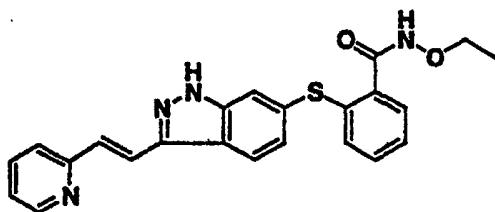
6-[2-(2-propynylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(cc) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že propargylamin byl použit namísto propylaminu (76 %): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,56 (m, 1H), 7,96 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz), 7,81 (d, 1H, 16,4 Hz), 7,68 (dt, 1H, $J = 1,8, 7,8$ Hz), 7,6 (m, 1H), 7,52-7,45 (m, 3H), 7,3-7,23 (m, 3H), 7,16 (m, 2H), 4,10 (m, 2), 2,20 (t, 1H, $J = 2,6$ Hz). LCMS (100% oblast) $R_t = 3,36$ minuty (poz) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 411,1, změřeno 411,1. Analyzováno s 0,2 H_2O , 0,17 DMF, 1,2 dichlormethan, vypočteno: C (58,44), H (4,19), N (11,05), S (6,07). Změřeno: C (58,18), H (4,11), N (10,98), S (6,05).

Příklad 35(dd)

6-[2-(ethoxykarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

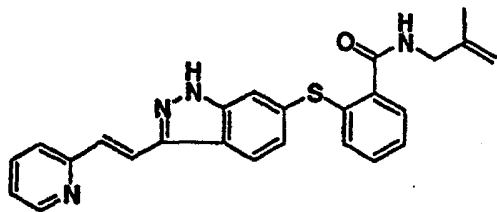


Sloučenina z příkladu 35(dd) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že ethoxyamin byl použit namísto propylaminu: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 11,60 (s, 1H), 8,71 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz), 8,30 (d, 1H,

$J = 8,5$ Hz), 8,05 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,91 (dt, 1H, $J = 1,7$, 7,7 Hz), 7,76 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz), 7,67 (m, 2H), 7,56 (dd, 1H, $J = 1,8$, 7,3 Hz), 7,52-7,36 (m, 3H), 7,28 (m, 2H), 4,06 (q, 2H, $J = 7,0$ Hz), 1,31 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz), LCMS (100% oblast) $R_t = 3,28$ minuty (poz) $[M+H]^+/z$ vypočteno 417,1, změřeno 417,1. Analyzováno s 0,2 H₂O, vypočteno: C (65,53), H (4,98), N (13,05), S (7,48). Změřeno: C (65,66), H (4,91), N (12,75), S (7,44).

Příklad 35(ee)

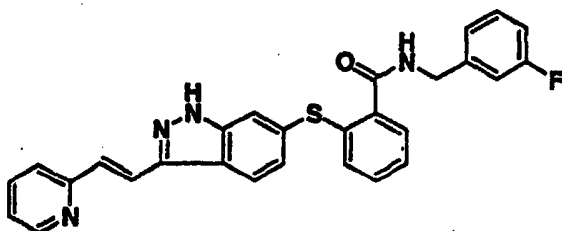
6-[2-(2-methyl-2-propenylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(ee) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že 2-methylallylamin byl použit namísto propylaminu: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,56 (m, 1H), 7,98 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,81 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,69 (dt, 1H, $J = 1,7$, 7,7 Hz), 7,60 (m, 1H), 7,53-7,42 (m, 3H), 7,32-7,24 (m, 3H), 7,16 (m, 2H), 6,72 (m, 1H), 4,89 (s, 1H), 4,81 (s, 1H), 3,90 (d, 2H, $J = 5,5$ Hz), 1,71 (s, 3H). LCMS (100% oblast) $R_t = 3,37$ minuty (poz) $[M+H]^+/z$ vypočteno 427,1, změřeno 427,1. Analyzováno s 0,7 H₂O, 0,1 dichlormethan, vypočteno C (67,35), H (5,31), N (12,52), S (7,16). Změřeno: C (67,55), H (5,39), N (12,35), S (7,15).

Příklad 35(ff)

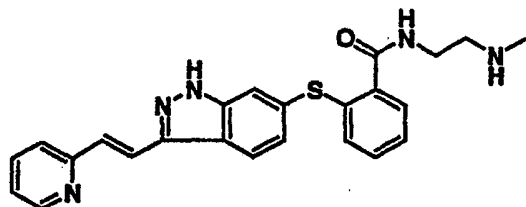
6-[2-((3-fluorbenzyl)methylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(ff) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že 3-fluorbenzylamin byl použit namísto propylaminu: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,60 (m, 1H), 7,97 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,86 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,70 (m, 2H), 7,51 (m, 2H), 7,33 (m, 4H), 7,18 (m, 2H), 7,11 (dd, 1H, $J = 1,6, 8,5$ Hz), 6,95 (m, 3H), 4,51 (d, 2H, $J = 5,7$ Hz), LCMS (100% oblast) $R_t = 3,55$ minuty (poz) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 481,1, změřeno 481,1. Analyzováno s 0,7 H_2O , 0,5 dichlormethan, vypočteno: C (63,91), H (4,40), N (10,46), S (5,99). Změřeno: C (63,80), H (4,34), N (10,34), S (5,98).

Příklad 35(gg)

6-[2-(2-(methylamino)ethylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

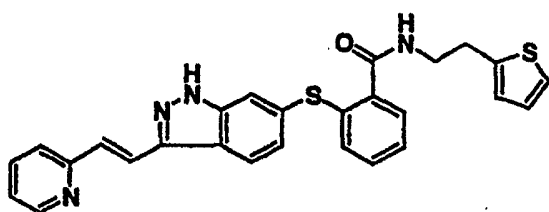


Sloučenina z příkladu 35(gg) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že N-methylethyldiamin byl použit namísto propylaminu: ^1H NMR

(300 MHz, CDCl₃) δ 8,60 (m, 1H), 7,98 (d, 1H, J = 8,5 Hz), 7,81 (d, 1H, J = 16,4 Hz), 7,69 (dt, 1H, J = 1,7, 7,7 Hz), 7,52 (m, 1H), 7,50–7,40 (m, 3H), 7,30–7,20 (m, 3H), 7,16 (m, 2H), 3,45 (t, 2H), 2,69 (t, 2H), 2,15 (š s, 3H), LCMS (100% oblast) R_t = 3,16 minuty (poz) $[M+H]^+/z$ vypočteno 430,1, změřeno 430,1. Analyzováno s 0,2 H₂O, 0,6 dichlormethan, 0,06 hexan, vypočteno: C (61,28), H (5,24), N (14,31), S (6,55). Změřeno: C (61,26), H (5,14), N (14,22), S (6,56).

Příklad 35(hh)

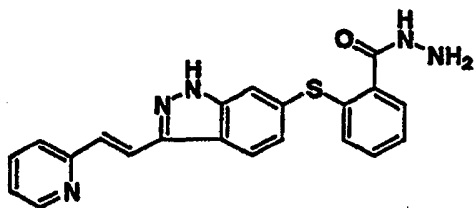
6-[2-(2-(thien-2-yl)ethylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 35(hh) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že 2-(2-aminoethyl)thiofen byl použit namísto propylaminu: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,56 (m, 1H), 7,98 (d, 1H, J = 8,5 Hz), 7,81 (d, 1H, J = 16,4 Hz), 7,69 (dt, 1H, J = 1,7, 7,7 Hz), 7,60 (m, 1H), 7,53–7,42 (m, 3H), 7,32–7,24 (m, 3H), 7,16 (m, 2H), 6,72 (m, 1H), 6,63 (m, 1H), 6,52 (m, 1H), 3,45 (q, 2H), 3,00 (t, 2H). Analyzováno s 0,5 H₂O, 0,07 dichlormethan, vypočteno, C (65,35), H (4,69), N (11,26), S (12,82). Změřeno: C (65,49), H (4,80), N (11,21), S (12,77).

Příklad 35(ii)

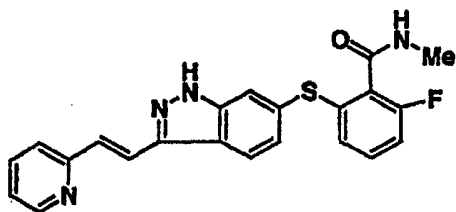
6-(2-(aminokarbamoyl)fenylsulfanyl)-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



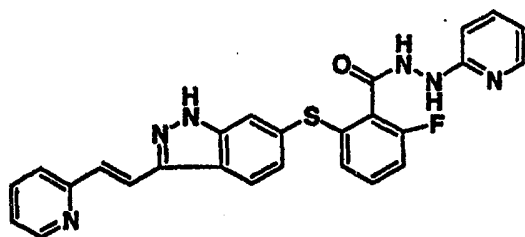
Sloučenina z příkladu 35(ii) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že hydrazin byl použit namísto propylaminu: ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,3 (s, 1H), 9,57 (s, 1H), 8,54 (d, 1H, $J = 3,9$ Hz), 8,14 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,89 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,73 (dt, 1H, $J = 1,7, 7,6$ Hz), 7,60 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz), 7,50 (m, 2H), 7,40 (dd, 1H, $J = 1,8, 7,1$ Hz), 7,3-7,1 (m, 4H), 7,0 (m, 1H). LCMS (100% oblast) $R_t = 0,55$ minuty (poz) $[\text{M}+\text{H}]^+/z$ vypočteno 388,1, změřeno 388,1. Analyzováno s 0,1 DMF, 0,55 EtOAc, 0,12 toluen (NMR) a 0,15 H_2O , vypočteno: C (63,98), H (5,15), N (15,63), S (7,02). Změřeno: C (63,99), H (5,07), N (15,75), S (6,89).

Příklady 35(jj)-35(nn) mohou být připraveny podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a).

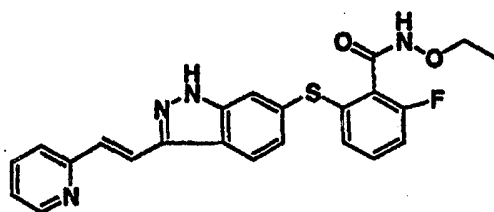
Příklad 35(jj)



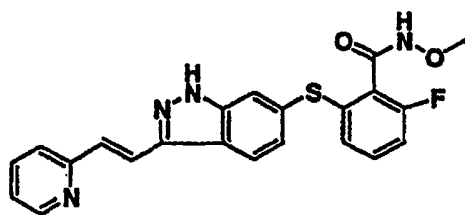
Příklad 35(kk)



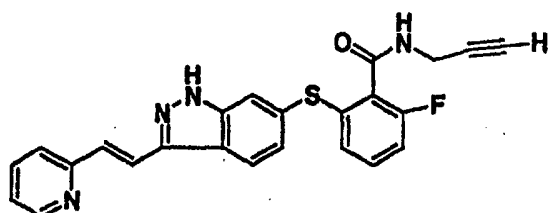
Příklad 35(ll)



Příklad 35(mm)

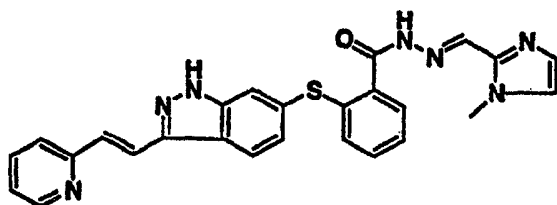


Příklad 35(nn)



Příklad 36(a)

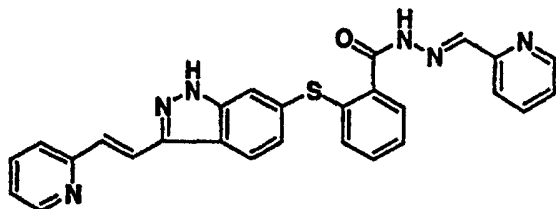
6-[2-(N²-(1-methylimidazol-2-ylmethyliden)hydrazino)karbonyl)-fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



40 mg (0,103 mmol) sloučeniny připravené v příkladu 35(ii) bylo podrobena působení 29 mg (0,258 mmol, 2,5 ekv.) 1-methyl-2-imidazolkarboxaldehydu v ethanolu za vzniku sloučeniny z příkladu 36(a): ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 8,60 (m, 2H), 8,31 (s, 1H), 8,18 (d, 1H), 8,02 (d, 1H), 7,98 (d, 1H), 7,80 (m, 2H), 7,63 (m, 2H), 7,40 (m, 3H), 7,30 (m, 1H), 7,20 (m, 1H), 7,02 (m, 2H), 6,93 (s, 1H), 4,00 (s, 3H), LCMS (100% oblast) Rt = 4,0 minuty (poz) [M+H]⁺/z vypočteno 480,2, změřeno 480,2. Analyzováno s 1,45 H₂O, vypočteno: C (61,76), H (4,76), N (19,39), S (6,34). Změřeno: C (61,78), H (4,67), N (19,34), S (6,39).

Příklad 36(b)

6-[2-(N²-(pyrid-2-ylmethyliden)hydrazino)karbonyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

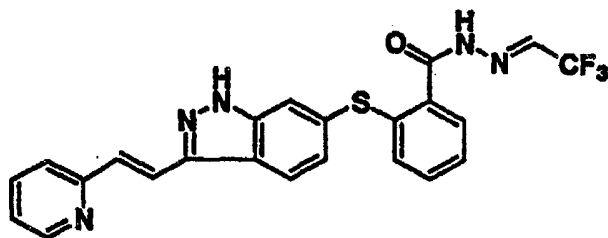


Sloučenina z příkladu 36(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 36(a) kromě toho, že 2-pyridylkarboxaldehyd byl použit namísto 1-methyl-2-imidazolkarboxaldehydu: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,57 (m, 2H), 8,45

(m, 2H), 8,22 (d, 1H), 8,10 (s, 1H), 7,93 (d, 1H), 7,83 (d, 1H), 7,8-7,1 (m, 11H), LCMS (100% oblast) Rt = 4,0 minuty (poz) [M+H]/z vypočteno 477,1, změřeno 477,1. Analyzováno s 0,85 H₂O, vypočteno: C (65,93), H (4,45), N (17,09), S (6,52). Změřeno: C (66,02), H (4,42), N (16,95), S (6,38).

Příklad 36(c)

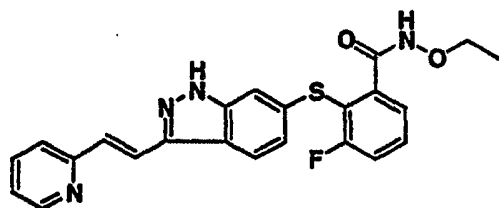
6-[2-(N²-(2,2,2-trifluoroethyliden)hydrazino)karbonyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 36(c) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 36(a) kromě toho, že trifluoracetaldehyd byl použit namísto 1-methyl-2-imidazol-karboxaldehydu: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 8,70 (m, 1H), 8,25 (m, 1H), 8,02 (d, 1H), 7,90 (dt, 1H), 7,80-7,20 (m, 10H). LCMS (100% oblast) Rt = 5,64 minuty (poz) [M+H]/z vypočteno 468,1, změřeno 468,0. Analyzováno s 0,75 H₂O, vypočteno: C (57,39), H (3,67), N (14,56), S (6,67). Změřeno: C (57,44), H (3,67), N (14,56), S (6,67).

Příklad 37(a)

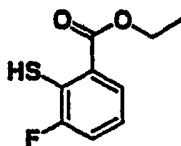
6-[6-fluor-2-(ethoxykarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 37(a) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a) kromě toho, že byla použita výchozí látka popsaná níže a že ethoxyamin byl použit namísto propylaminu: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,59 (m, 1H), 8,08 (d, 1H), 7,88 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,79 (t, 1H), 7,65 (d, 1H), 7,60 (m, 1H), 7,50 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,40 (t, 1H), 7,36 (d, 1H), 7,28 (s, 1H), 7,23 (m, 1H), 7,10 (d, 1H), 3,90 (q, 2H), 1,19 (t, 3H). LCMS (100% oblast) $R_t = 4,85$ minuty (poz) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 435,1, změřeno 435,1, (neg) $[\text{M}-\text{H}]/z$ vypočteno 433,1, změřeno 433,1. Analyzováno s 0,35 H_2O , 0,07 EtOAc vypočteno: C (62,56), H (4,57), N (12,54), S (7,17). Změřeno: C (62,61), H (4,55), N (12,49), S (7,11).

Výchozí látka byla připravena takto:

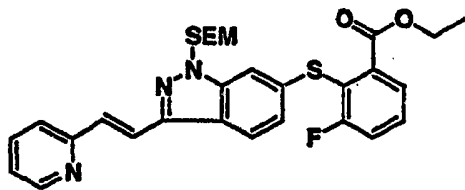
(i)



Roztok 1,07 g (5,75 mmol) ethyl-2,3-difluorbenzoátu v 10 ml DMF byl podroben působení 896 mg (11,5 mmol, 2,0 ekv.) sulfidu sodného ve 23 °C. Směs byla míchána v argonové atmosféře po dobu 10 hodin. Roztok byl naředěn 50 ml ethylacetátu a 50 ml vody a 5 ml 10% kyseliny citronové. Organická vrstva byla promyta saturovaným vodným hydrouhličitanem sodným, usušena nad sulfátem sodným, dekantována a koncentrována při sníženém tlaku za vzniku ethylesteru 3-fluor-2-merkaptobenzoové kyseliny: ^1H NMR (300

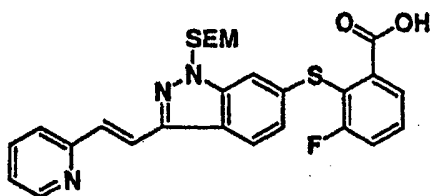
MHz, CDCl_3) δ 7,71 (t, 1H), 7,38 (m, H), 7,12 (m, 1H), 4,41 (q, 2H), 1,40 (t, 3H), LCMS (100% oblast) R_t = 4,53 minuty (poz) $[M+H]/z$ vypočteno 201,0, změřeno 200,9.

(ii)



320 mg (39 %) výše uvedeného thioetheru bylo připraveno podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 33(a), krok (iii), kromě toho, že ethylester 3-fluor-2-merkaptobenzoové kyseliny byl použit namísto thiosalicylátu: FTIR (tenký film) 2952, 1727, 1607, 1586, 1564, 1469, 1433, 1366, 1292, 1249, 182, 1141, 1074, 836 cm^{-1} , ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,62 (m, 1H), 7,90 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 7,85 (d, 1H, J = 16,4 Hz), 7,67 (dt, 1H, J = 1,8, 7,7 Hz), 7,57-7,38 (m, 5H), 7,23-7,10 (m, 3H), 5,65 (s, 2H), 4,34 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 3,56 (t, 2H, J = 8,2 Hz), 1,30 (t, 3H, J = 7,1 Hz), 0,88 (t, 2H, J = 8,2 Hz), -0,06 (s, 9H), LCMS (100% oblast) R_t = 4,44 minuty (poz) $[M+H]/z$ vypočteno 549,2, změřeno 549,2.

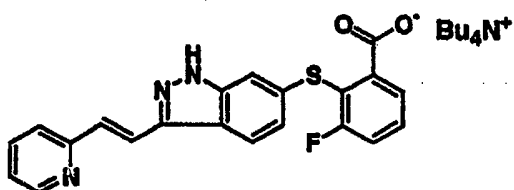
(iii)



303 mg (99 %) karboxylové kyseliny uvedené výše bylo připraveno podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 33(a), krok (iv): FTIR (tenký film) 2953, 2496, 1715, 1643,

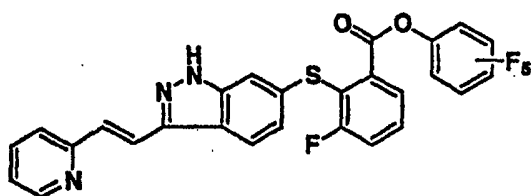
1607, 1567, 1470, 1434, 1300, 1250, 1221, 1075, 967, 932, 836 cm^{-1} , ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,81 (m, 1H), 7,87 (m, 2H), 7,79 (m, 3H), 7,65 (m, 2H), 7,56 (m, 1H), 4,40 (m, 1H), 7,30 (m, 1H), 7,00 (dd, 1H, $J = 1,4, 8,5$ Hz), 5,58 (s, 2H), 3,59 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), 0,93 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), -0,01 (s, 9H). LCMS (100% oblast) $R_t = 10,47$ minutách (poz) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 522,2, změřeno 522,2.

(iv)



Výše uvedená sůl byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 33(g): ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 13,2 (s, 1H), 8,68 (m, 1H), 8,12 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,98 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,88 (dt, 1H, $J = 1,8, 7,6$ Hz), 7,73 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz), 7,61 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,43–7,32 (m, 3H), 7,20 (m, 2H), 7,07 (t, 1H), 3,23 (m, 8H), 1,68 (m, 8H), 1,41 (m, 8H), 1,04 (t, 12H).

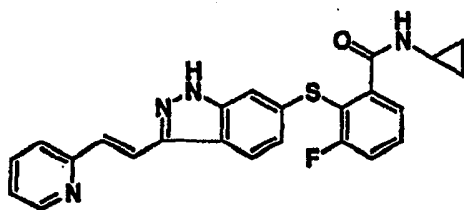
(v)



Výše uvedený pentafluorfenylester byl připraven podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 35(a), krok (i): LCMS (100% oblast) $R_t = 10,53$ minuty (poz) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 558,1, změřeno 558,1.

Příklad 37(b)

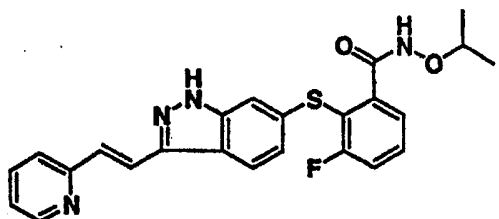
6-[6-fluor-2-(cyklopropylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 37(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 37(a) kromě toho, že cyklopropylamin byl použit namísto ethoxyaminu: ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8,42 (m, 1H), 8,28 (d, 1H), 7,83 (d, 1H), 7,75 (m, 2H), 7,60 (m, 1H), 7,31 (m, 2H), 7,15 (m, 4H), 6,86 (d, 1H), 2,58 (m, 1H), 0,42 (m, 2H), 0,23 (m, 2H). LCMS (100% oblast) Rt = 4,91 minuty (poz) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 431,1, změřeno 431,1, (neg) $[\text{M}-\text{H}]/z$ vypočteno 429,1, změřeno 429,2. Analyzováno s 0,55 H_2O , vypočteno: C (65,46), H (4,60), N (12,72), S (7,28). Změřeno: C (65,52), H (4,58), N (12,64), S (7,06).

Příklad 37(c)

6-[6-fluor-2-(isopropoxykarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

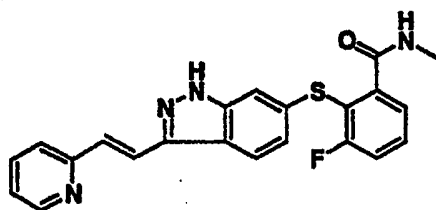


Sloučenina z příkladu 37(c) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 37(a) kromě toho, že isopropoxyamin byl použit namísto ethoxyaminu: ^1H NMR (300 MHz,

CDCl₃) δ 9,50 (š s, 1H), 8,47 (m, 1H), 7,72 (d, 1H), 7,68 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,54 (dt, 1H), 7,35 (m, 4H), 7,20 (m, 4H), 4,03 (m, 1H), 1,07 (d, 6H), LCMS (100% oblast) Rt = 4,90 minuty (poz) [M+H]⁺/z vypočteno 449,1, změřeno 449,1. Analyzováno s 0,1 DMF, 0,3 H₂O, vypočteno: C (63,28), H (4,87), N (12,45), S (6,95). Změřeno: C (63,22), H (4,84), N (12,37), S (6,91).

Příklad 37(d)

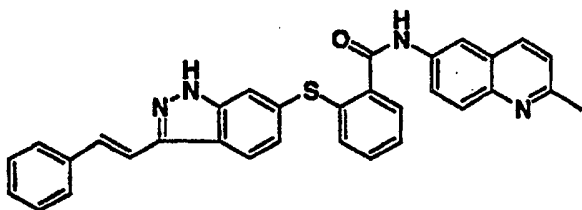
6-[6-fluor-2-(methylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 37(d) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 37(a) kromě toho, že methylamin byl použit namísto ethoxyaminu: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 8,37 (m, 1H), 8,18 (m, 1H), 7,87 (d, 1H), 7,67 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,59 (dt, 1H), 7,40 (d, 1H), 7,30 (m, 2H), 7,20 (m, 4H), 6,85 (d, 1H), 2,49 (d, 3H), LCMS (100% oblast) Rt = 4,63 minuty (poz) [M+H]⁺/z vypočteno 405,1, změřeno 405,2, (neg) [M-H]⁻/z vypočteno 403,1, změřeno 403,1. Analyzováno s 0,2 DMF, 0,3 CH₂Cl₂ (nmr), 0,3 H₂O, vypočteno: C (61,13), H (4,39), N (13,07), S (7,13). Změřeno: C (61,08), H (4,35), N (13,14), S (7,22).

Příklad 38(a)

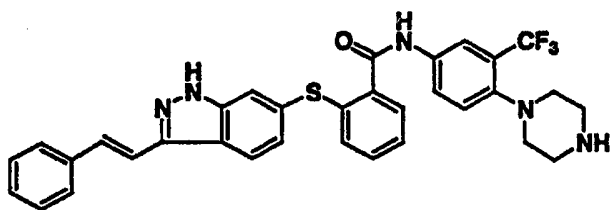
6-[2-(2-methylchinol-6-ylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-(2-styryl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 38(a) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 33(b) kromě toho, že kroky (i) a (ii) byly vynechány: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,58 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 7,80 (m, 3H), 7,67 (t, 1H), 7,43 (m, 2H), 7,34–7,16 (m, 9H), 7,13 (d, 1H), 7,07 (d, 1H), 2,60 (s, 3H). LCMS (100% oblast) R_t = 3,87 minuty (poz) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 513,1, změřeno 513,2.

Příklad 38(b)

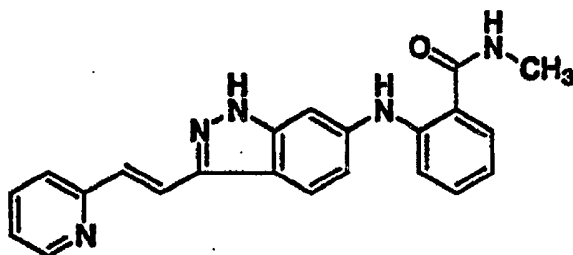
6-[2-((4-piperazin-1-yl-3-trifluormethylfenyl)karbamoyl)fenyl-sulfanyl]-3-E-(2-styryl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 38(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 38(a) kromě toho, že 3-trifluormethyl-4-piperazin-1-yl-fenylamin byl použit namísto 6-amino-2-methylchinolinu: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,75 (s, 1H), 7,95 (d, 1H), 7,77 (m, 2H), 7,69 (s, 1H), 7,55 (m, 3H), 7,40–7,25 (m, 9H), 7,20 (d, 1H), 3,00 (m, 4H), 2,83 (m, 4H). LCMS (100% oblast) R_t = 3,94 minuty (poz) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 600,2, změřeno 600,2. Analyzováno s 0,1 hexan (nmr), 1,4 H_2O , vypočteno: C (63,71), H (5,12), N (11,06), S (5,06). Změřeno: C (63,67), H (5,06), N (10,98), S (5,00).

Příklad 39(a)

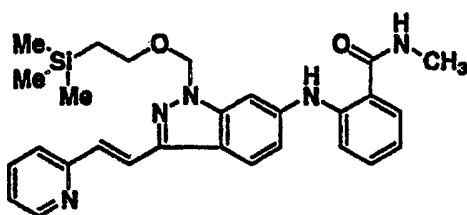
6-[2-(methylkarbamoyl)fenylamino]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol



Roztok 39 mg (0,07820 mmol) N-methyl-2-[3-((E)-2-pyridin-2-ylvinyl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-6-ylamino]benzamidů (syntéza popsaná níže), 21 μ l (0,3128 mmol) ethylendiaminu a 0,63 ml (0,6256 mmol) 1M TBAF v THF byl míchán v olejové lázni v 90 °C po dobu 2 hodin. Surová reakční směs byla naředěna 50 ml ethylacetátu, extrahována 2 x 20 ml 1M roztoku hydrouhličitánu sodného, 5 x 20 ml solanky, usušena nad sulfátem hořečnatým, filtrována a koncentrována na pevnou látku. Pevná látka byla rozpuštěna v THF, koncentrována na olej, pak triturována směsí CH_2Cl_2 a Et_2O , což způsobilo precipitaci prášku. Prášek byl sbírán filtrací, promyt Et_2O a usušen za vysokého vakua. Hmotnost sebrané pevné látky byla 20 mg (70 % výtěžek). ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 12,91 (š s, 1H), 9,86 (s, 1H), 8,60 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 8,52 (m, 1H), 8,08 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,90 (d, $J = 16,4$ Hz, 1H), 7,80 (dt, $J = 1,7, 7,5$ Hz, 1H), 7,65 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,51 (d, $J = 16,1$ Hz, 1H), 7,47-7,34 (m, 2H), 7,25 (m, 2H), 7,00 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 6,89 (t, $J = 7,0$ Hz, 1H), 2,79 (d, $J = 4,7$ Hz, 3H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O} \cdot 0,5 \text{CH}_2\text{Cl}_2$: C, 65,61, H, 4,89, N, 17,00. Změřeno: C, 65,52, H, 5,08, N, 16,78.

Výchozí látka byla připravena takto:

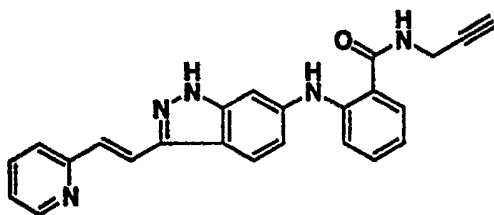
(i)



Roztok 191 mg (0,4 mmol) 6-jod-3-karboxaldehyd-1-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-1H-indazolu (z příkladu 33(a), krok (ii)), 120,1 mg (0,8 mmol) methylantranilátu, 28 mg (0,08 mmol) 2-(dicyklohexylfosfino)bifenyly, 18,4 mg (0,02 mmol) $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, 212,3 mg (1,0 mmol) K_3PO_4 , rozpuštěný v 1,0 ml suchého DME, byl ve vakuu 3 x probublán argonem, pak míchán v argonové atmosféře po dobu 3 dnů v olejové lázni v 80 °C. Surová směs byla filtrována přes krátký sloupec SiO_2 za eluce ethylacetátem, a pak purifikována chromatografií na chromatotronu s kruhovou deskou za eluce směsí 25% CH_3CN a CH_2Cl_2 . Hmotnost čistých frakcí byla 42 mg. Bylo také sebráno dalších 120 mg produktu, který byl čistý ~90 %. Celkový výtěžek N-methyl-2-[3-((E)-2-pyridin-2-ylvinyl)-1-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl)-1H-indazol-6-ylamino]benzamidu bylo 162 mg neboli ~81 %.

Příklad 39(b)

6-[2-(prop-2-ynylkarbamoyl)fenylamino]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol

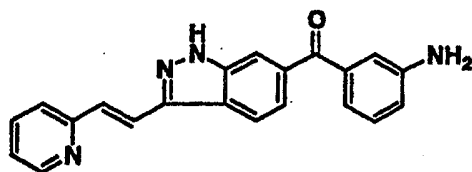


Sloučenina z příkladu 39(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 39(a) kromě toho, že

propargylamin byl použit namísto methylaminu. ^1H NMR (CDCl_3) δ 9,50 (s, 1H), 8,64 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 7,98 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H), 7,90 (d, $J = 16,4$ Hz, 1H), 7,70 (dt, $J = 1,7, 7,5$ Hz, 1H), 7,57 (d, $J = 16,3$ Hz, 1H), 7,52-7,43 (m, 3H), 7,34 (dt, $J = 1,5, 7,2$ Hz, 1H), 7,26 (m, 3H), 7,34 (ddd, $J = 1,0, 4,9, 7,5$ Hz, 1H), 7,09 (dd, $J = 1,7, 9,0$ Hz, 1H), 6,85 (dt, $J = 1,0, 7,0$ Hz, 1H), 6,33 (š s, 1H), 4,24 (dd, $J = 2,6, 5,3$ Hz, 2H), 2,30 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H). Anal. výpočet pro $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O} \cdot 0,25 \text{CH}_2\text{Cl}_2$: C, 70,24, H, 4,74, N, 16,89. Změřeno: C, 70,72, H, 4,96, N, 16,55.

Příklad 40(a)

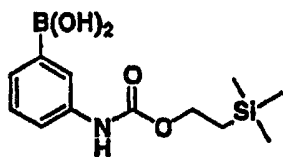
6-(3-aminobenzoyl)-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 40(a) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 11. ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13,5 (s, 1H), 8,62 (d, 1H, $J = 3,86$ Hz), 8,34 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 8,01 (d, 1H, $J = 16,36$ Hz), 7,87 (s, 1H), 7,83 (td, 1H, $J = 7,69$ Hz, $J = 1,81$ Hz), 7,58-7,71 (m, 3H), 7,29 (qd, 1H, $J = 7,39$ Hz, $J = 0,98$ Hz), 7,21 (t, 1H, $J = 7,77$), 7,00 (t, 1H, $J = 1,86$ Hz), 6,90 (dt, 1H, $J = 6,15$ Hz, $J = 1,40$ Hz), 6,86 (m, 1H), 5,40 (š s, 2H). MS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]^+/z$ vypočteno 446, změřeno 446. Vypočteno: C, 74,10, H, 4,74, N, 16,46. Změřeno: C, 72,72, H, 4,87, N, 16,02.

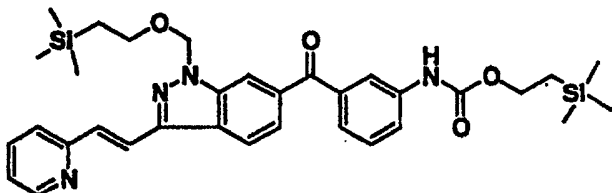
Výchozí látka byla připravena takto:

(i)



K 8,22 g (60 mmol) m-aminofenylboronové kyseliny v 60 ml dimethylformamidu ve 23 °C v argonové atmosféře bylo přidáno 10 ml (72 mmol) triethylaminu a 0,366 g (3 mmol) 4-(dimethyl-amino)pyridinu. Výsledný roztok byl zahříván na 50 °C. Bylo přidáno 20,4 g (72 mmol) 4-nitrofenylester-2-trimethylsilanylethylesteru kyseliny uhličitě v 5 dávkách po 4 g po dobu 18 hodin. Po 44 hodinách bylo přidáno 3,4 g (12 mmol) 4-nitrofenylester-2-trimethylsilanylethylesteru uhličitě kyseliny následováno 1,7 ml (12 mmol) triethylaminu. Po 63 hodinách reakční směs byla koncentrována na olej. Purifikace chromatografií na silikagelu za eluce směsí ethylacetátu a hexanu 3:7 až 7:3 poskytla 8,12 g (48 %) 2-trimethylsilanylethylesteru (3-boronfenyl)karbamové kyseliny: R_f sm 0,067, p 0,33 (směs ethylacetátu a hexanu 1:1), ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,64 (s, 1H), 7,49 (d, 1H, $J = 8,94$ Hz), 7,26 (m, 2H), 4,23 (t, 2H, $J = 8,28$ Hz), 1,06 (t, 2H, $J = 8,21$ Hz) 0,72 (s, 9H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{Na}]/z$ vypočteno 304, změřeno 304.

(ii)

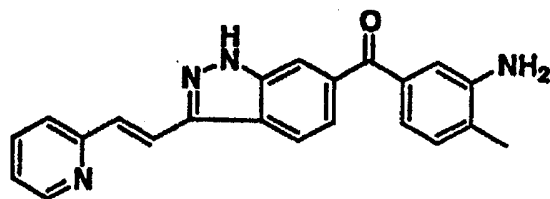


Směs 7,1 g (14,8 mmol) 6-jod-3-((E)-2-pyridin-2-ylvinyl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu, 8,32 g (29,6 mmol) 2-trimethylsilanylethylesteru (3-boronová kyselina-fenyl)karbamové kyseliny, 312 mg (0,44 mmol) dichlorbis-

(trifenylfosfin)palladia(II), 6,13 g (44,4 mmol) uhličitanu draselného a 2,1 ml (14,8) triethylaminu v 60 ml anisolu byla zahřívána na 80 °C v atmosféře oxidu uhelnatého. Po 24 hodinách bylo přidáno dalších 2,1 ml (14,8 mmol) triethylaminu. Po 33 hodinách bylo zjištěno analýzou TLC, že reakce byla ukončena (směs ethylacetátu a hexanu 7:3). Reakční směs byla ochlazena na 23 °C, a pak naředěna 40 ml saturovaného vodného NaHCO₃ a 300 ml ethylacetátu. Fáze byly odděleny a vodná fáze byla extrahována 2 x 100 ml ethylacetátu. Sloučené ethylacetátové vrstvy byly promyty 100 ml solanky, a usušeny nad Na₂SO₄, filtrovány a koncentrovány. Purifikace chromatografií na silikagelu poskytla 7,22 g (79 %) 2-trimethylsilanylethylesteru (3-{1-[3-(2-pyridin-2-ylethyl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-6-yl]methanoyl}-fenyl)karbamové kyseliny jako žlutého skla. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,65 (d, 1H, J = 3,93 Hz), 8,10 (d, 1H, J = 8,54 Hz), 8,04 (s, 1H), 7,94 (d, 1H, J = 16,33 Hz), 7,82 (s, 1H), 7,66-7,77 (m, 3H), 7,61 (d, 1H, J = 16,35 Hz), 7,40-7,51 (m, 3H), 7,19 (m, 1H), 7,00 (s, 1H), 5,77 (s, 2H), 4,25 (t, 2H, J = 6,93 Hz), 3,60 (t, 2H, J = 8,10 Hz), 1,04 (t, 2H, J = 6,79 Hz), 1,00 (t, 2H, J = 8,13 Hz), 0,04 (s, 9H), 0,0 (s, 9H). MS (ESI+) [M+H]/z vypočteno 615, změřeno 615.

Příklad 40(b)

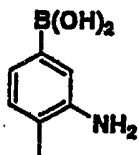
6-(3-amino-4-methylbenzoyl)-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 40(b) byla připravena podobným způsobem jako v příkladu 40(a) kromě toho, že v kroku (i) 4-methyl-3-aminofenylboronová kyselina, připravená jak popsáno níže, byla použita namísto m-aminofenylboronové kyseliny. ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 13,6 (s, 1H), 8,62 (d, 1H, $J = 3,81$ Hz), 8,33 (d, 1H, $J = 8,47$ Hz), 8,01 (d, 1H, $J = 16,36$ Hz), 7,85 (s, 1H), 7,82 (dd, 1H, $J = 7,60$ Hz, $J = 1,80$ Hz), 7,70 (d, 1H, $J = 7,81$ Hz), 7,63 (d, 1H, $J = 16,36$ Hz), 7,57 (dd, 1H, $J = 8,47$ Hz, $J = 1,2$ Hz), 7,29 (m, 1H), 7,12 (d, 1H, $J = 7,82$ Hz), 7,09 (d, 1H, $J = 1,64$ Hz), 6,90 (dd, 1H, $J = 7,59$ Hz, $J = 1,65$ Hz), 5,16 (š s, 1H), 2,16 (s, 1H). MS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 355, Anal. výpočet: C, 74,56, H, 5,12, N, 15,81. Změřeno: C, 73,86, H, 5,25, N, 15,34.

Výchozí látka byla připravena takto:

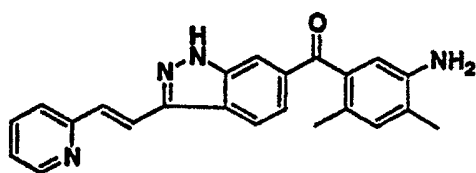
(i)



Směs 3,34 g (18,45 mmol) 4-methyl-3-nitrofenylboronové kyseliny a 334 mg 10% Pd/C ve 30 ml MeOH byl hydrogenována 101.325 kPa (1 atm) ve 23 °C. Po 22 hodinách byla reakční směs filtrována přes celit a koncentrována za vzniku 2,53 g (91 %) 3-amino-4-methylfenylboronové kyseliny. ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 7,21 (s, 1H), 7,08 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz), 6,92 (d, 1H, $J = 7,46$ Hz), 4,81 (š s, 2H), 2,09 (s, 3H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 152, změřeno 152.

Příklad 40(c)

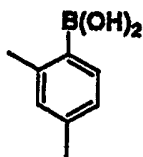
6-(5-amino-2,4-dimethylbenzoyl)-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 40(c) byla připravena podobným způsobem jako v příkladu 40(a) kromě toho, že v kroku (i) 2,4-dimethyl-3-aminofenylboronová kyselina (připravená jak popsáno níže) byla použita namísto m-aminofenylboronové kyseliny: ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 8,62 (d, 1H, $J = 3,78$ Hz), 8,32 (d, 1H, $J = 8,48$ Hz), 7,99 (d, 1H, $J = 16,35$ Hz), 7,83 (td, 1H, $J = 7,68$ Hz, $J = 1,8$ Hz), 7,80 (s, 1H), 7,69 (d, 1H, $J = 7,80$ Hz), 7,64 (dd, 1H, $J = 8,47$ Hz, $J = 1,27$ Hz), 7,62 (d, 1H, $J = 16,36$ Hz), 7,29 (m, 1H), 6,94 (s, 1H), 6,64 (s, 1H), 4,87 (š s, 2H), 2,12 (s, 3H), 2,10 (s, 3H). LCMS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 369, změřeno 369. Anal. výpočet: C, 74,98, H, 5,47, N, 15,21. Změřeno: C, 73,85, H, 5,56, N, 14,49.

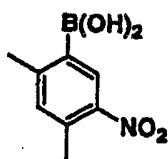
Výchozí látka byla připravena takto:

(i)



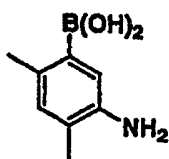
2,4-dimethylfenylboronová kyselina byla vytvořena podobným způsobem, jako v příkladu 24(a), krok (vii), kromě toho, že 2,4-dimethylbrombenzen byl použit jako výchozí látka. ^1H NMR (CD_3OD) δ 7,13 (d, 1H, $J = 7,43$ Hz), 7,00 (s, 1H), 6,97 (d, 1H, $J = 7,49$ Hz), 2,28 (s, 3H), 2,28 (s, 3H). LCMS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 151, změřeno 151.

(ii)



K 1 ml dýmavé kyselině dusičné ochlazené na $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ byl přidán 1 ml TFA. Výsledná směs byla ponechána ohřát se trochu na $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ a v jedné dávce bylo přidáno 150 mg (1 mmol) 2,4-dimethylfenylboronové kyseliny. Po 1 hodině byl přidán led a heterogenní směs byla filtrována. Výsledná pevná látka byla suspendována v Et_2O a extrahována 1 ml 3N vodného NaOH, pak 2 ml vody. Vodná fáze byla acidifikována 1 ml 3N vodné HCl a opět extrahována 3 x 5 ml EtOAc. Sloučené organické vrstvy byly promyty solankou, usušeny nad Na_2SO_4 , dekantovány a koncentrovány za vzniku 93 mg (47 %) 2,4-dimethyl-5-nitro-fenylboronové kyseliny. LCMS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 196, změřeno 196.

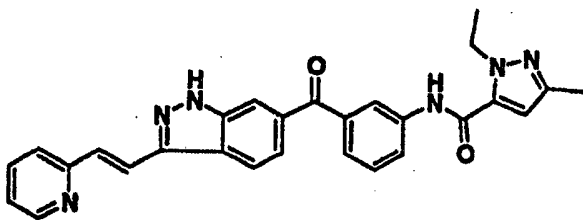
(iii)



3-amino-4,6-dimethylfenylboronová kyselina byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 40(b), krok (i). ^1H NMR (CD_3OD) δ 6,83 (s, 2H), 6,64 (s, 1H), 2,17 (s, 3H), 2,13 (s, 3H).

Příklad 41(a)

6-[3-((1-ethyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)benzoyl]-
3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

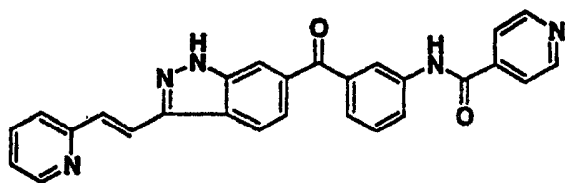


K roztoku 323 mg (2,1 mmol, 2,1 ekv.) 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny v 5 ml DMF ve 23 °C v argonové atmosféře bylo přidáno 365 μ l (2,1 mmol, 2,1 ekv.) diisopropylethylaminu, 798 mg (2,1 mmol, 2,1 ekv.) HATU a katalytické množství DMAP. K výslednému roztoku bylo přidáno 340 mg (1 mmol, 1 ekv.) 6-(3-aminobenzoyl)-3-E-(2-pyridin-2-yl)ethenyl)-1H-indazolu (příklad 40(a)). Reakce pak byla sledována HPLC, dokud nebyl všechen výchozí analin spotřebován, ~2 hodiny (což poskytlo směs mono a bis acylovaných sloučenin). Reakční směs byla zastavena saturovaným NaHCO_3 , pak naředěna vodou a extrahována ethylacetátem. Sloučené EtOAc vrstvy byly promyty vodou, solankou, usušeny nad Na_2SO_4 , filtrovány a koncentrovány na olej. Olej byl rozpuštěn v 10 ml methanolu, bylo přidáno 290 mg (2,1 mmol, 2,1 ekv.) K_2CO_3 a výsledná směs byla míchána ve 23 °C, dokud nebyla spotřebována bis-acylovaná sloučenina (~30 minut). Reakční směs byla koncentrována na olej, pak rozdělena mezi vodu a EtOAc. Organické fáze byly promyty solankou, usušeny nad Na_2SO_4 , filtrovány a koncentrovány. Purifikace chromatografií na silikagelu (1:1-8:2 ethylacetate-dichlormethan) poskytla sloučeninu z příkladu 41(a). ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13,6 (s, 1H), 10,3 (s, 1H), 8,62 (d, 1H, J = 3,88 Hz), 8,38 (d, 1H, J = 8,51 Hz), 8,20 (s, 1H), 8,12 (td, 1H, J = 7,58 Hz, J = 1,78 Hz), 8,02 (d, 1H, J = 16,36 Hz), 7,93 (s, 1H), 7,83 (td, 1H, J = 7,61 Hz, J = 1,7 Hz), 7,70 (d, 1H, J = 7,78 Hz), 7,65 (d, 1H, J = 16,23 Hz), 7,65-7,53 (m, 3H), 7,30 (m, 1H), 4,43 (q, 2H, J = 7,07 Hz), 2,21 (s, 3H), 1,31 (t, 3H, J = 7,07 Hz). MS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 477,

změřeno 477. Anal. výpočet: C, 70,57, H, 5,08, N, 7,64.
Změřeno: C, 70,46, H, 5,11, N, 17,61.

Příklad 41(b)

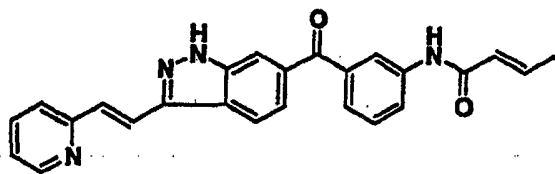
6-[3-(pyridin-4-ylkarboxamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(a) kromě toho, že isonikotinová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8,74 (d, 2H, $J = 6,04$ Hz), 8,56 (d, 1H, $J = 4,14$ Hz), 8,27 (m, 2H), 8,05 (dt, 1H, $J = 7,97$ Hz, $J = 1,64$ Hz), 8,02 (s, 1H), 7,95 (d, 1H, $J = 16,55$ Hz), 7,83-7,91 (m, 3H), 7,73 (m, 2H), 7,56-7,67 (m, 3H), 7,32 (m, 1H). MS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]^+/z$ vypočteno 446, změřeno 446. Anal. výpočet: C, 72,80, H, 4,30, N, 15,72. Změřeno: C, 71,59, H, 4,43, N, 15,33.

Příklad 41(c)

6-(3-krotonylamidobenzoyl)-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

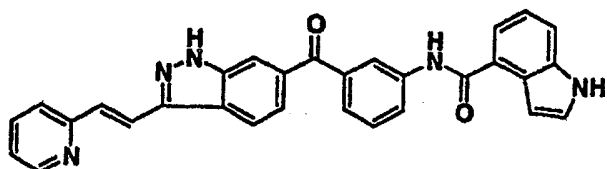


Sloučenina z příkladu 41(c) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(a) kromě toho, že

krotonová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,6 (s, 1H), 10,2 (s, 1H), 8,63 (d, 1H, $J = 3,81$ Hz), 8,37 (d, 1H, $J = 8,49$ Hz), 8,12 (s, 1H), 8,02 (d, 1H, $J = 16,34$ Hz), 7,99 (d, 1H, $J = 7,88$ Hz), 7,83 (td, 1H, $J = 7,67$ Hz, $J = 1,78$ Hz), 7,70 (d, 1H, $J = 7,85$ Hz), 7,65 (d, 1H, $J = 16,40$ Hz), 7,63 (dd, 1H, $J = 8,43$ Hz, $J = 1,23$ Hz), 7,47-7,56 (m, 2H), 7,29 (qd, 1H, $J = 7,39$ Hz, $J = 0,99$ Hz), 6,82 (m, 1H, $J = 6,9$ Hz), 6,11 (dd, $J = 15,21$ Hz, $J = 1,68$ Hz), 1,87 (d, 3H, $J = 6,89$ Hz). MS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 409, změřeno 409. Anal. výpočet: C, 73,51, H, 4,94, N, 13,72. Změřeno: C, 72,15, H, 4,97, N, 13,39.

Příklad 41(d)

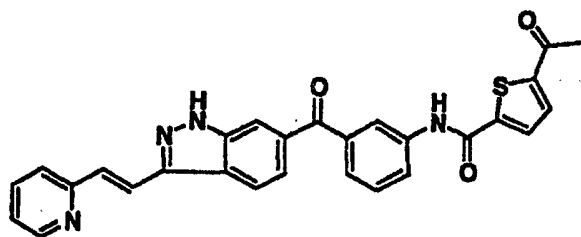
6-[3-(indol-4-ylkarboxamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(d) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(a) kromě toho, že 1H-indol-4-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. LCMS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 484, změřeno 484.

Příklad 41(e)

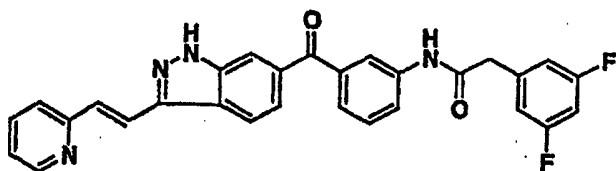
6-[3-((5-acetylthien-2-yl)karboxamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(e) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(a) kromě toho, že 5-acetylthiofen-2-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,6 (s, 1H), 10,6 (s, 1H), 8,63 (d, 1H, J = 3,83 Hz), 8,39 (d, 1H, J = 8,51 Hz), 8,20 (s, 1H), 8,14 (dt, 1H, J = 7,25 Hz, J = 2,05 Hz), 8,07 (d, 1H, J = 4,09 Hz), 8,02 (d, 1H, J = 16,42 Hz), 8,00 (d, 1H, J = 4,01 Hz), 7,94 (s, 1H), 7,83 (td, 1H, J = 7,69 Hz, J = 1,78 Hz), 7,59 7,65 (m, 5H), 7,30 (qd, 1H, J = 7,40 Hz, J = 0,96 Hz), 2,58 (s, 3H). MS (ESI+) $[M+H]^+/z$ vypočteno 493, změřeno 493. Anal. výpočet: C, 68,28, H, 4,09, N, 11,37, S, 6,51. Změřeno: C, 66,07, H, 4,34, N, 10,91, S, 6,14.

Příklad 41(f)

6-[3-(3,5-difluorfenylacetamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

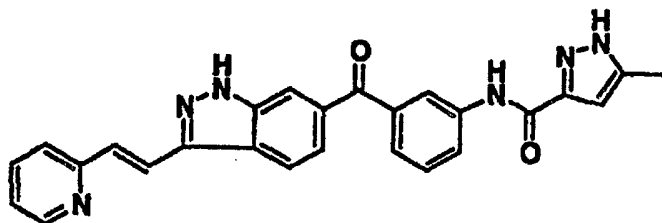


Sloučenina z příkladu 41(f) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(a) kromě toho, že (3,5-difluorfenyl)octová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,6 (š s, 1H), 10,5 (s, 1H), 8,62 (d, 1H, J =

4,02 Hz), 8,36 (d, 1H, $J = 8,51$ Hz), 8,05 (s, 1H), 8,01 (d, 1H, $J = 16,38$ Hz), 7,93 (d, 1H, $J = 7,88$ Hz), 7,90 (s, 1H), 7,83 (td, 1H, $J = 7,61$ Hz, $J = 1,77$ Hz), 7,70 (d, 1H, $J = 7,85$ Hz), 7,64 (d, 1H, $J = 16,33$ Hz), 7,61 (dd, 1H, $J = 8,45$ Hz, $J = 1,15$ Hz), 7,48-7,57 (m, 2H), 7,15-7,31 (m, 5H), 3,77 (s, 2H). MS (ESI+) $[M+H]^+/z$ vypočteno 495, změřeno 495.

Příklad 41(g)

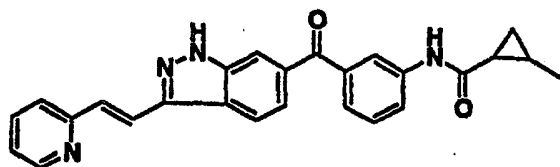
6-[3-((5-methyl-1H-pyrazol-3-yl)karboxamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(g) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(a) kromě toho, že 5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,6 (š s, 1H), 13,0 (š s, 1H), 10,3 (š s, 1H), 8,63 (d, 1H, $J = 3,95$ Hz), 8,37 (d, 1H, $J = 8,66$ Hz), 8,36 (s, 1H), 8,16 (d, 1H, $J = 7,55$ Hz), 8,02 (d, 1H, $J = 16,37$ Hz), 7,93 (s, 1H), 7,83 (dt, 1H, $J = 7,61$ Hz, $J = 1,73$ Hz), 7,70 (d, 1H, $J = 7,82$ Hz), 7,65 (d, 1H, $J = 16,36$ Hz), 7,65 (dd, 1H, $J = 8,55$ Hz, $J = 1,12$ Hz), 7,52 (m, 2H), 7,29 (m, 1H), 6,50 (s, 1H), 2,29 (s, 3H). MS (ESI+) $[M+H]^+/z$ vypočteno 449, změřeno 449. Anal. výpočet: C, 69,63, H, 4,49, N, 18,74. Změřeno: C, 68,53, H, 4,95, N, 17,47.

Příklad 41(h)

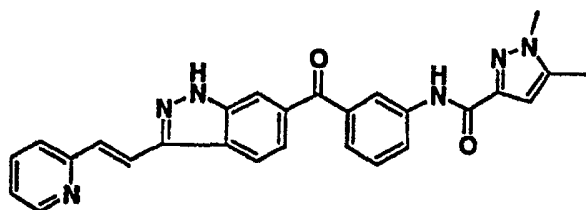
6-[3-((2-*RS*-trans-methylcyklopropyl)karboxamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(h) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(a) kromě toho, že 2-methyl-cyklopropankarboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. R_f sm 0,32, R_f p 0,42 (směs ethylacetátu a dichlormethanu 8:2), ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,6 (s, 1H), 10,4 (s, 1H), 8,62 (dd, 1H, J = 4,75 Hz, J = 0,96 Hz), 8,36 (d, 1H, J = 8,47 Hz), 8,06 (t, 1H, J = 1,67 Hz), 8,01 (d, 1H, J = 16,37 Hz), 7,90 (m, 2H), 7,83 (td, 1H, J = 7,68 Hz, J = 1,79 Hz), 7,70 (d, 1H, J = 7,84 Hz), 7,64 (d, 1H, J = 16,35 Hz), 7,61 (dd, 1H, J = 8,47 Hz, J = 1,32 Hz), 7,51 (t, 1H, J = 7,69 Hz), 7,45 (dt, 1H, J = 7,68 Hz, J = 1,50 Hz), 7,29 (dq, 1H, J = 7,41 Hz, J = 1,04 Hz), 1,51 (m, 1H), 1,23 (m, 1H), 1,09 (d, 3H, J = 5,93), 1,01 (m, 1H), 0,65 (m, 1H). MS (ESI+) $[M+H]^+/z$ vypočteno 423, změřeno 423. Anal. výpočet: C, 73,92, H, 5,25, N, 13,26. Změřeno: C, 71,41, H, 5,56, N, 13,27.

Příklad 41(i)

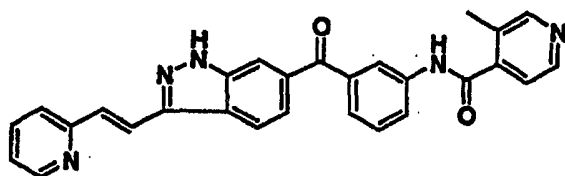
6-[3-((1,5-dimethyl-1H-pyrazol-3-yl)karboxamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(i) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(a) kromě toho, že 1,5-dimethyl-1H-pyrazol-3-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,6 (s, 1H), 10,2 (s, 1H), 8,63 (d, 1H, $J = 3,87$ Hz), 8,37 (d, 1H, $J = 8,49$ Hz), 8,34 (d, 1H, $J = 1,63$ Hz), 8,16 (td, 1H, $J = 7,43$ Hz, $J = 1,96$ Hz), 8,02 (d, 1H, $J = 16,35$ Hz), 7,92 (s, 1H), 7,83 (dt, 1H, $J = 7,68$ Hz, $J = 1,79$ Hz), 7,70 (d, 1H, $J = 7,84$ Hz), 7,65 (d, 1H, $J = 16,35$ Hz), 7,65 (dd, 1H, $J = 8,52$ Hz, $J = 1,2$ Hz), 7,52 (m, 2H), 7,29 (m, 1H), 6,55 (s, 1H), 3,83 (s, 3H), 2,30 (s, 3H). MS (ESI+) $[M+H]^+/z$ vypočteno 463, změřeno 463. Anal. výpočet: C, 70,12, H, 4,79, N, 18,17. Změřeno: C, 69,59, H, 4,88, N, 17,86.

Příklad 41(j)

6-[3-((3-methylpyridin-4-yl)karboxamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

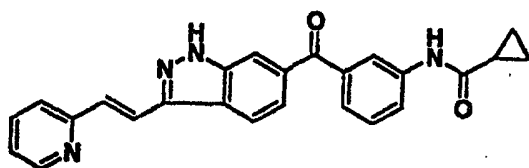


Sloučenina z příkladu 41(j) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(a) kromě toho, že 3-methylisonikotinová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,6 (s, 1H), 10,7 (s, 1H), 8,62 (dd, 1H, $J = 4,72$ Hz, $J = 0,86$ Hz), 8,57 (s, 1H), 8,55 (d, 1H, $J = 4,91$ Hz), 8,37 (d, 1H, $J = 8,46$ Hz), 8,20 (s, 1H), 8,07 (dt, 1H, $J = 7,27$ Hz, $J = 1,99$ Hz), 8,02 (d, 1H, $J = 16,37$ Hz), 7,93 (s, 1H), 7,83 (td, 1H, $J = 7,69$ Hz, $J = 1,79$ Hz), 7,70 (d, 1H, $J = 7,84$ Hz), 7,64 (d, 1H, $J = 16,27$ Hz), 7,55-7,65 (m, 3H), 7,48

(d, 1H, $J = 4,89$ Hz), 7,30 (qd, 1H, $J = 7,39$ Hz, $3 = 1,02$ Hz), 2,38 (s, 3H). MS (ESI+) $[M+H]^+/z$ vypočteno 460, změřeno 460.

Příklad 41(k)

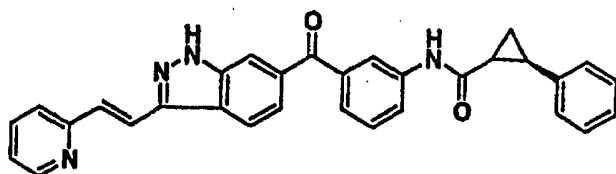
6-[3-(cyklopropylkarboxamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(k) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 41(a) kromě toho, že cyklopropankarboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR ($\text{CDCl}_3/\text{MeOD}$) δ 8,52 (d, 1H, $J = 3,9$ Hz), 8,09 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,93 (s, 1H), 7,85-7,80 (m, 3H), 7,71-7,63 (m, 2H), 7,55-7,48 (m, 3H), 7,39 (1H, t, $J = 7,8$ Hz), 7,16 (1H, qd, $J = 6,3,1,5$ Hz), 1,62-1,57 (m, 1H), 1,25-1,84 (m, 2H), 0,87-0,81 (m, 2H). HRMS (MALDI) $\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2$ $[M+H]^+/z$ vypočteno 409,1659, změřeno 409,1660.

Příklad 41(l)

6-[3-((2-RS-trans-fenylcyklopropyl)karboxamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

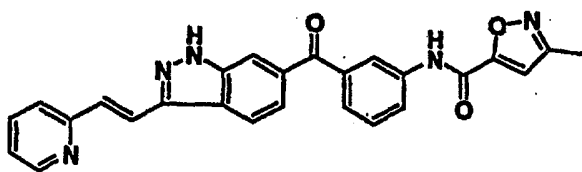


Sloučenina z příkladu 41 (l) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 41(a) kromě toho, že (1S,2S)-2-fenylcyklopropankarboxylová kyselina byla použita namísto 2-

ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR ($\text{CDCl}_3/\text{MeOD}$) δ 8,60 (d, 1H, $J = 4,2$ Hz), 8,17 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 8,02 (s, 1H), 7,91 (t, 3H, $J = 8,1$ Hz), 7,78-7,71 (m, 2H), 7,63-7,56 (m, 3H), 7,47 (t, 1H), 7,32-7,12 (m, 5H), 2,60-2,54 (m, 1H), 1,94-1,90 (m, 1H), 1,69 (q, 1H, $J = 4,8$ Hz), 1,37-1,32 (m, 1H). HRMS $\text{C}_{31}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_2$ vypočteno $(\text{M}+\text{H}^+)/z$ 485,1993, změřeno 485,1995.

Příklad 41(m)

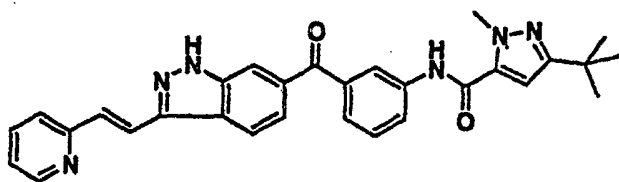
6-[3-((3-methylisoxazol-5-yl)karboxamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(m) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 41(a) kromě toho, že 3-methylisoxazol-5-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 10,95 (1H, s), 8,68 (1H, d, J 4,2 Hz), 8,44 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 8,35 (s, 1H), 8,21-8,18 (m, 1H), 8,08 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz), 7,98 (s, 1H), 7,87 (td, 1H, $J = 7,5, 1,8$ Hz), 7,76-7,64 (m, 6H), 7,37-7,33 (m, 1H), 6,72 (s, 1H) 3,36 (s, 3H). HRMS (MALDI) $\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}^+]/z$: vypočteno 450,1561, změřeno 450,1570.

Příklad 41(n)

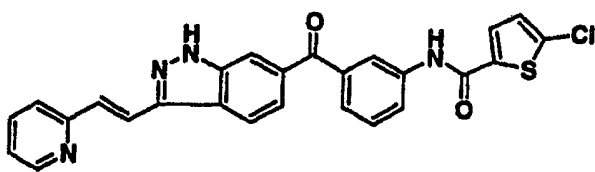
6-[3-((3-t-butyl-1-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)-benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(n) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 41(a) kromě toho, že 5-terc-butyl-2-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR ($\text{CDCl}_3/\text{MeOD}$) δ 8,59 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz), 8,14 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 8,08-8,04 (m, 1H,), 7,98-7,92 (m, 3H), 7,75 (td, 1H, $J = 7,8, 1,8$ Hz), 7,68 (dd, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,61-7,56 (m, 3H), 7,52 (t, 1H, $J = 8,70$ Hz), 7,25-7,21 (m, 1H,), 6,75 (s, 1H,), 4,12 (s, 3H), 1,30 (s, 9H). HRMS (MALDI) $\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}^+]/z$: vypočteno 505,2347, změřeno 505,2353.

Příklad 41(o)

6-[3-((5-chlorthien-2-yl)karboxamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

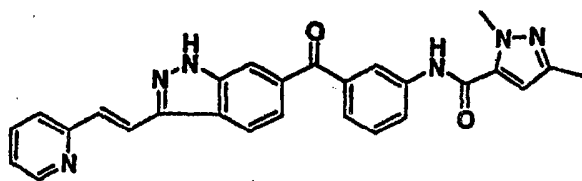


Sloučenina z příkladu 41(o) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 41(a) kromě toho, že 5-chlorthiofen-2-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 10,58 (s, 1H), 8,68 (d, 1H, $J = 4,2$ Hz), 8,43 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 8,22 (s, 1H,), 8,15 (dt, 1H, $J = 7,5, 2,0$ Hz), 8,08 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 8,00-7,98 (m, 3H), 7,88 (td, 1H, $J = 7,7, 1,9$ Hz), 7,78-7,62 (m, 4H,), 7,33 (d, 2H, $J = 4,1$ Hz). HRMS

(MALDI) $C_{26}H_{17}N_4O_2ClS$ $[M+H^+]/z$: vypočteno 485,0843, změřeno 485,0853.

Příklad 41(p)

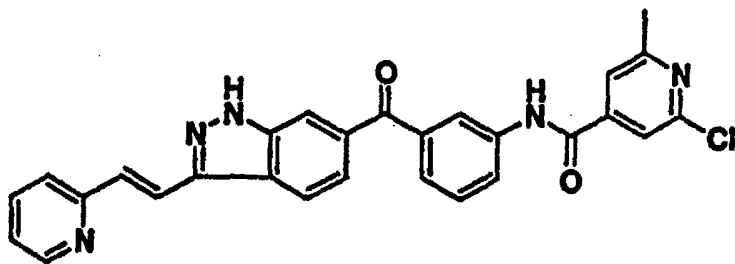
6-[3-((1,3-dimethyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin 2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(p) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 41(a) kromě toho, že 2,5-dimethyl-2H-pyrazol-3-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. HPLC: Rt 3,90 minut (100% oblast). ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 8,52 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz), 8,10 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,98 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 7,93 (s, 1H,), 7,88-7,80 (m, 3H), 7,71-7,62 (m, 2H), 7,56-7,49 (m, 4H), 7,44 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz), 7,16 (dd, 1H, $J = 7,1, 4,8$ Hz). HRMS (MALDI) $C_{27}H_{22}N_6O_2$. $[M+H^+]/z$: vypočteno 463,1877, změřeno 465,1889.

Příklad 41(q)

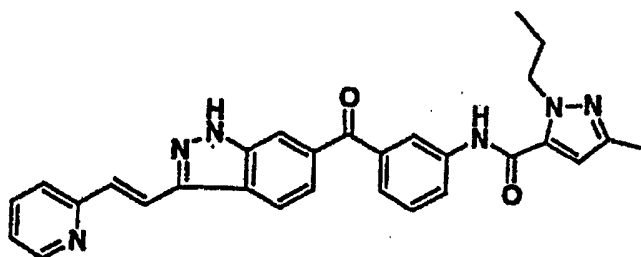
6-[3-((2-chlor-6-methylpyridin-4-yl)karboxamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(q) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 41(a) kromě toho, že 2-chlor-6-methylisonikotinová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. HPLC: Rt 4,11 minut (100% oblast). ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 10,77 (s, 1H), 8,68 (d, 1H, J = 3,9 Hz), 8,44 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 8,28 (s, 1H), 8,21 (dt, 1H, J = 6,9, 2,1 Hz), 8,08 (d, 1H, J = 16,2 Hz), 7,98 (s, 1H), 7,92-7,64 (m, 9H), 7,35 (dd, 1H, J = 6,6, 4,8 Hz), 2,61 (s, 3H).

Příklad 41(r)

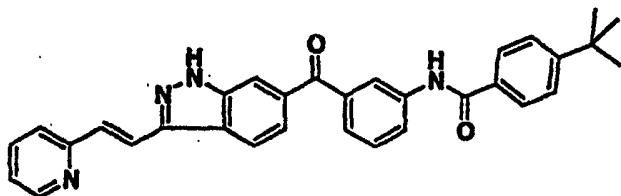
6-[3-((1-n-propyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)-benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(r) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 41(a) kromě toho, že 5-methyl-2-propyl-2H-pyrazol-3-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 10,29 (s, 1H), 8,58 (d, 1H, J = 3,9 Hz), 8,33 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 8,13 (s, 1H), 8,10 (dt, 1H, J = 5,4, 2,1 Hz), 7,96 (d, 1H, J = 16,5 Hz), 7,87 (s, 1H), 7,78 (td, 1H, J = 7,5, 1,5 Hz), 7,61-7,49 (m, 6H), 7,24 (dd, 1H, J = 6,9, 1,8 Hz), 4,32 (t, 2H, J = 6,90 Hz), 1,69 (q, 2H, J = 7,2 Hz), 0,77 (t, 3H, 7,5 Hz). HRMS (MALDI) $\text{C}_{28}\text{H}_{20}\text{ClN}_5\text{O}_2$. $[\text{M}+\text{H}^+]/z$: vypočteno 491,2190, změřeno 491,2203.

Příklad 41(s)

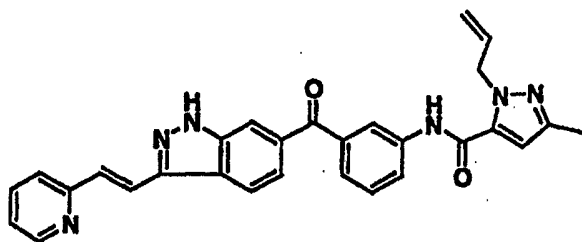
6-[3-(4-*t*-butylbenzamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(s) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 41(a) kromě toho, že 4-*terc*-butylbenzoová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. HPLC: Rt 4,67 minut (100% oblast). ^1H NMR (DMSO) δ 10,45 (s, 1H), 8,44 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 8,32 (s, 1H), 8,22 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz), 8,07 (d, 1H, $J = 16,5$ Hz), 7,99-7,95 (m, 3H), 7,88 (td, 1H, $J = 7,7, 1,5$ Hz), 7,69-7,59 (m, 7H), 7,38 (dd, 1H, 13,5, 5,1 Hz), 1,36 (s, 9H).

Příklad 41(t)

6-[3-((1-allyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

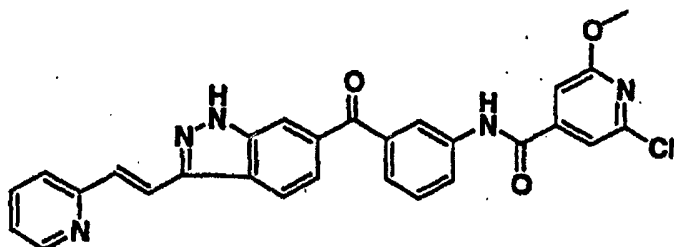


Sloučenina z příkladu 41(t) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 41(a) kromě toho, že 2-allyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. HPLC: Rt 4,11 minut (100% oblast). ^1H NMR (DMSO) δ 10,46 (s, 1H), 8,74 (t, 1H, $J = 5,1$ Hz), 8,48 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 8,28 (s, 1H),

8,22 (t, 1H, $J = 5,4, 2,1$ Hz), 8,15-8,01 (m, 3H), 7,39 (td, 1H, $J = 7,8, 1,8$ Hz), 7,82-7,63 (m, 6H), 7,39 (td, 1H, $J = 7,7, 1,5$ Hz), 6,14-6,02 (m, 1H), 5,22-5,03 (m, 4H), 2,38 (s, 3H). HRMS (MALDI) $C_{29}H_{24}N_6O_2$ ($M+H^+$)/ z : vypočteno 489,2034, změřeno 489,2035.

Příklad 41(u)

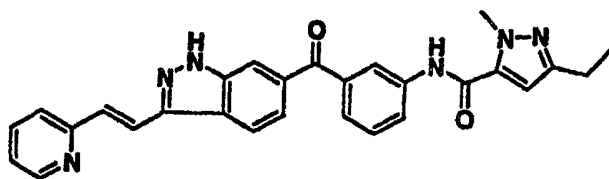
6-[3-((2-chlor-6-methoxypyridin-4-yl)karboxamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(u) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 41(a) kromě toho, že 2-chlor-6-methoxyisonikotinová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. HPLC: $R_t = 4,37$ minut (100% oblast). ^1H NMR ($DMSO-d_6$) δ 10,74 (s, 1H), 8,68 (d, 1H, $J = 3,6$ Hz), 8,44 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 8,28 (s, 1H), 8,20 (td, 1H, $J = 6,6, 2,4$ Hz), 8,07 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz), 7,98 (s, 1H), 7,89 (td, 1H, $J = 7,7, 1,8$ Hz), 7,77-7,62 (m, 6H), 7,38 (s, 1H), 7,35 (dd, 1H, $J = 6,9, 1,8$ Hz), 3,98 (s, 3H).

Příklad 41(v)

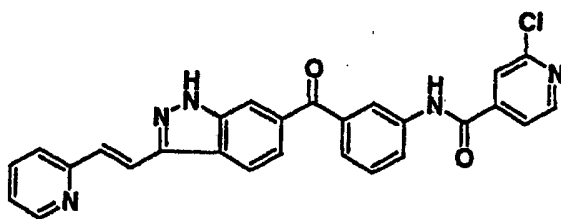
6-[3-((3-ethyl-1-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(v) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 41(a) kromě toho, že 5-ethyl-2-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. Rt 4,16 minut (100% oblast). ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 10,44 (s, 1H), 8,73 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz), 8,78 (d, 1H, 8,7 Hz), 8,30 (s, 1H), 8,23 (d, 1H, $J = 6,9$ Hz), 8,14-8,03 (m, 2H), 7,93 (t, 1H, 6,9 Hz), 7,82-7,63 (m, 6H), 7,40 (t, 1H, $J = 6,3$ Hz), 7,01 (s, 1H), 4,12 (s, 1H), 2,68 (q, 2H, 7,8 Hz), 1,30 (t, 3H, $J = 7,5$ Hz). HRMS (MALDI) $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+/\text{z}$: vypočteno 477,2034, změřeno 477,2054.

Příklad 41(w)

6-[3-((2-chlorpyridin-4-yl)karboxamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

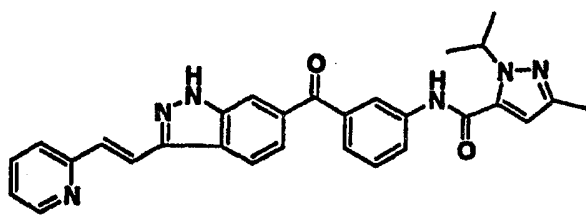


Sloučenina z příkladu 41(w) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 41(a) kromě toho, že 2-chlor-isonikotinová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. HPLC: Rt = 3,99 minut (100% oblast). ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 10,88 (s, 1H), 7,33 (d, 2H, $J = 4,8$ Hz), 8,49 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 8,33 (s, 1H), 8,26 (td, 1H, $J =$

6,9, 3,0 Hz), 8,12-7,91 (m, 5H), 7,82-7,63 (m, 5H), 7,40 (t, 1H, $J = 4,8$ Hz).

Příklad 41(x)

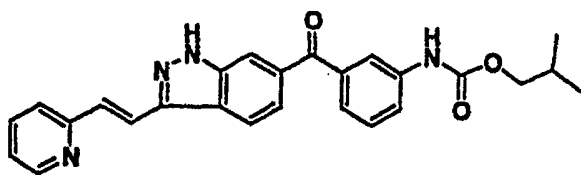
6-[3-((1-isopropyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)-benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(x) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 41(a) kromě toho, že 2-isopropyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. HPLC: Rt 4,19 minut (100% oblast). ^1H NMR (DMSO) δ 10,46 (s, 1H), 8,72 (t, 1H, $J = 4,80$ Hz), 8,48 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz), 8,31 (s, 1H), 8,21 (td, 1H, $J = 9,6, 2,1$ Hz), 8,15-7,98 (m, 2H), 7,96-7,84 (m, 1H), 7,82-7,65 (m, 5H), 7,42-7,38 (m, 1H), 6,88 (s, 1H), 5,64-5,38 (m, 1H), 2,32 (s, 3H), 1,48 (d, 1H, $J = 6,6$ Hz). HRMS (MALDI) $\text{C}_{29}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+/\text{z}$, vypočteno 491,2190, změřeno 491,2194.

Příklad 41(y)

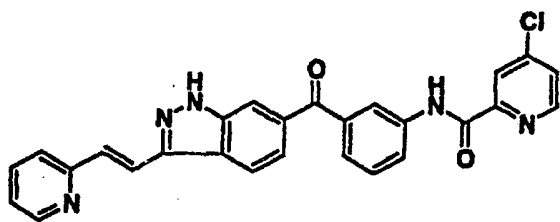
6-[3-(isopropoxykarbonylamino)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(y) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 41(a) kromě toho, že isopropylchloroformiát byl použit namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 9,97 (s, 1H), 8,72 (t, 2H, $J = 4,8$ Hz), 8,47 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 8,34-7,96 (m, 3H), 8,01-7,87 (m, 2H), 7,82-7,69 (m, 2H), 7,52 (dt, 1H, $J = 7,5, 1,2$ Hz), 7,42-7,36 (m, 2H), 3,68 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz), 2,02 (m, 1H), 1,02 (d, 6H, $J = 6,6$ Hz). HRMS (MALDI) $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+/\text{z}$: vypočteno 441,1921, změřeno 441,1937.

Příklad 41(z)

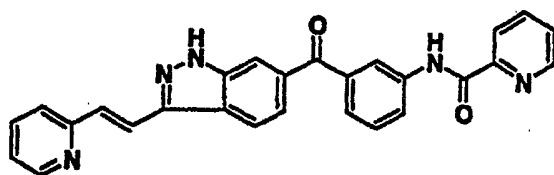
6-[3-((4-chlorpyridin-2-yl)karboxamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin 2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(z) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 41(a) kromě toho, že 4-chlorpyridin-2-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. HPLC: $R_t = 4,40$ minut (100% oblast). ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 10,99 (s, 1H), 8,72 (d, 1H, $J = 5,4$ Hz), 8,63 (d, 1H, $J = 3,9$ Hz), 8,44 (s, 1H), 8,38 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 8,25 (dt, 1H, $J = 6,6, 2,4$ Hz), 8,16 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz), 8,02 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz), 7,94 (s, 1H), 7,86-7,80 (m, 2H), 7,72-7,58 (m, 5H), 7,29 (dd, 1H, $J = 6,9, 6,0$ Hz).

Příklad 41(aa)

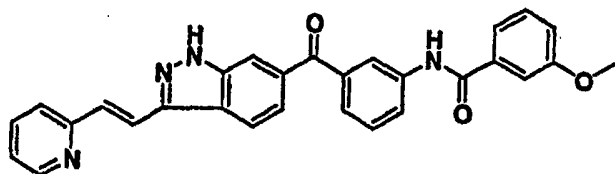
6-[3-(pyridin-2-ylkarboxamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(aa) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(a) kromě toho, že pyridin-2-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (300 MHz, DMF- d_6) δ 10,9 (s, 1H), 8,74 (m, 1H), 8,63 (dd, 1H, $J = 4,78$ Hz, 0,94 Hz), 8,46 (s, 1H), 8,38 (d, 1H, $J = 8,48$ Hz), 8,25 (dt, 1H, $J = 7,17$ Hz, $J = 2,05$ Hz), 8,16 (dt, 1H, $J = 7,73$ Hz, $J = 1,04$ Hz), 8,07 (td, 1H, $J = 7,56$ Hz, $J = 1,67$ Hz), 8,02 (d, 1H, $J = 16,28$ Hz), 7,95 (s, 1H), 7,83 (td, 1H, $J = 7,65$ Hz, $J = 1,81$ Hz), 7,22–7,66 (m, 4H), 7,30 (qd, 1H, $J = 7,40$ Hz, $J = 1,02$ Hz). MS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 446, změřeno 446.

Příklad 41(bb)

6-[3-(3-methoxybenzamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol

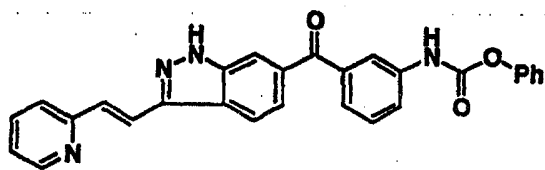


Sloučenina z příkladu 41(bb) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 41(a) kromě toho, že 3-methoxybenzoová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 10,50 (s, 1H), 8,67 (d, 1H, $J = 3,9$ Hz), 8,46 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 8,33 (s, 1H), 8,22 (dt, 1H, $J = 7,8$, 1,8), 8,08 (d, 1H, $J = 15,0$ Hz), 8,00 (s, 1H), 7,78–7,54 (m, 8H), 7,51 (t, 1H, 7,8 Hz), 7,38–7,33 (m, 1H), 7,23 (dd, 1H, $J = 7,5$, 1,5 Hz), 3,90 (s,

3H). HRMS (MALDI) $C_{29}H_{22}N_4O_3$. $[M+H]^+/z$: vypočteno 475,1765, změřeno 475,1763.

Příklad 41(cc)

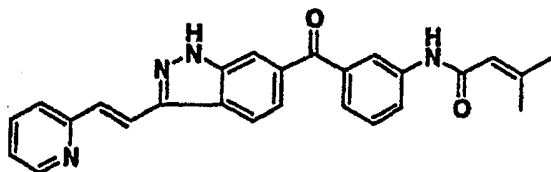
6-[3-(fenoxyamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(cc) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(a) kromě toho, že fenylchloroformiát byl použit namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. Tt 212-217 °C, ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,63 (s, 1H), 10,51 (s, 1H), 8,62 (d, 1H, $J = 4,3$ Hz), 8,36 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz), 8,04-7,81 (m, 5H), 7,71-7,40 (m, 7H), 7,31-7,22 (m, 4H). ESIMS m/z 461 $[M+H]^+$. Anal. vypočteno pro $C_{28}H_{20}N_4O_3 \cdot 0,3 H_2O$ 465,9 g mol^{-1} : C, 72,18, H, 4,46, N, 11,33. Změřeno: C, 72,41, H, 4,63, N, 1157.

Příklad 41(dd)

6-[3-(3,3-dimethylakrylamido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

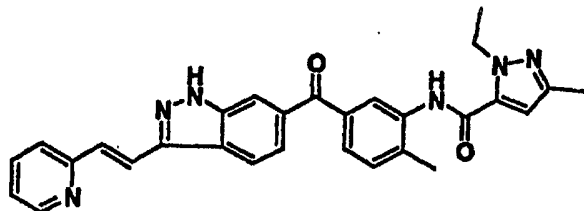


Sloučenina z příkladu 41(dd) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(a) kromě toho, že 3,3-dimethylakrylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-

methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,6 (s, 1H), 10,2 (s, 1H), 8,63 (d, 1H, $J = 3,81$ Hz), 8,37 (d, 1H, $J = 8,49$ Hz), 8,12 (s, 1H), 8,02 (d, 1H, $J = 16,34$ Hz), 7,99 (d, 1H, $J = 7,88$ Hz), 7,83 (td, 1H, $J = 7,67$ Hz, $J = 1,78$ Hz), 7,70 (d, 1H, $J = 7,85$ Hz), 7,63 (dd, 1H, $J = 8,43$ Hz, $J = 1,23$ Hz), 7,47-7,56 (m, 2H), 7,29 (qd, 1H, $J = 7,39$ Hz, $J = 0,99$ Hz), 6,82 (m, 1H, $J = 6,9$ Hz), 5,85 (s, 1H), 2,12 (s, 3H), 1,85 (s, 3H). MS (ESI+) $[M+H]/z$ vypočteno 409, změřeno 409. Anal. vypočteno pro $\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot 0,33$ TBME: C, 73,54, H, 5,80, N, 12,41. Změřeno: C, 73,26, H, 5,76, N, 12,36.

Příklad 41(ee)

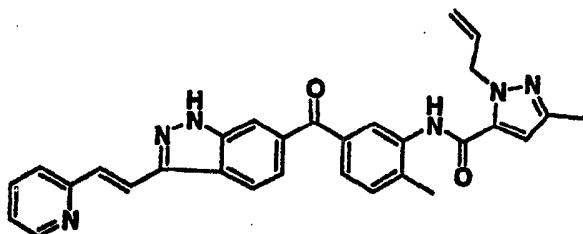
6-[3-((1-ethyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)-4-methylbenzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(ee) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 41(a) kromě toho, že sloučenina z příkladu 40(b) byla použita namísto sloučeniny z příkladu 40(a). ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,6 (s, 1H), 9,94 (s, 1H), 8,62 (d, 1H, $J = 3,8$ Hz), 8,36 (d, 1H, $J = 8,51$ Hz), 8,01 (d, 1H, $J = 16,36$ Hz), 7,91 (s, 1H), 7,84 (dd, 1H, $J = 7,66$ Hz, $J = 1,74$ Hz), 7,81 (s, 1H), 7,70 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz), 7,64 (d, 1H, $J = 16,45$ Hz), 7,62 (m, 2H), 7,50 (d, 1H, $J = 7,83$ Hz), 7,29 (m, 1H), 6,82 (s, 1H), 4,42 (q, 2H, $J = 7,06$ Hz), 2,36 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 1,30 (t, 3H, $J = 7,09$ Hz). MS (ESI+) $[M+H]/z$ vypočteno 491, změřeno 491. Anal. výpočet: C, 71,00, H, 5,34, N, 17,13. Změřeno: C, 70,80, H, 5,38, N, 17,00.

Příklad 41(ff)

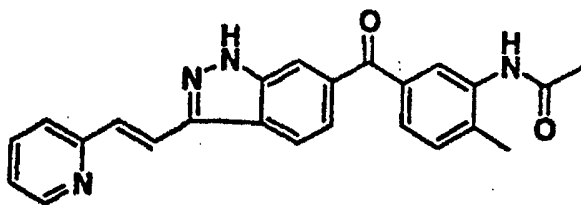
6-[3-((1-allyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)-4-methylbenzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(ff) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(ee) kromě toho, že 2-allyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,6 (s, 1H), 9,98 (s, 1H), 8,62 (d, 1H, J = 4,60 Hz), 8,36 (d, 1H, J = 8,46 Hz), 8,01 (d, 1H, J = 16,37 Hz), 7,91 (s, 1H), 7,83 (td, 1H, J = 7,69 Hz, J = 1,77 Hz), 7,78 (d, 1H, J = 1,73), 7,70 (d, 1H, J = 7,78 Hz), 7,59-7,70 (m, 3H), 7,50 (d, 1H, J = 8,01 Hz), 7,29 (qd, 1H, J = 7,46 Hz, J = 1,02 Hz), 6,86 (s, 1H), 5,95 (m, 1H), 4,93-5,10 (m, 4H), 2,34 (s, 3H), 2,22 (s, 3H). LCMS (ESI+) $[M+H]^+/z$ vypočteno 503, změřeno 503. Anal. výpočet: C, 71,70, H, 5,21, N, 16,72. Změřeno: C, 70,98, H, 5,42, N, 15,94.

Příklad 41(gg)

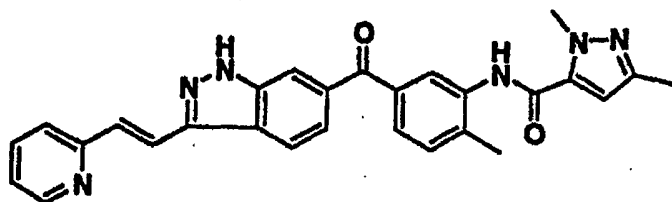
6-(3-acetamido-4-methylbenzoyl)-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(gg) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(ee) kromě toho, že acetylchlorid byl použit namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (CD_3OD) δ 8,57 (d, 1H, $J = 4,90$ Hz), 8,13 (d, 1H, $J = 8,49$ Hz), 7,99 (s, 1H), 7,95 (d, 1H, $J = 16,53$ Hz), 7,89 (d, 1H, $J = 1,46$ Hz), 7,86 (td, 1H, $J = 7,64$ Hz, $J = 1,73$ Hz), 7,73 (d, 1H, $J = 7,05$ Hz), 7,62-7,69 (m, 2H), 7,65 (d, 1H, $J = 16,48$ Hz), 7,44 (d, 1H, $J = 7,97$ Hz), 7,32 (qd, 1H, $J = 7,44$ Hz, $J = 1,03$ Hz), 2,38 (s, 3H), 2,18 (s, 3H). LCMS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 397, změřeno 397. Anal. výpočet: C, 72,71, H, 5,08, N, 14,13. Změřeno: C, 72,29, H, 5,09, N, 13,98.

Příklad 41(hh)

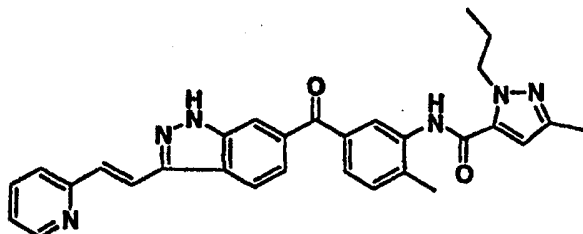
6-[3-((1,3-dimethyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)-4-methylbenzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(hh) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(ee) kromě toho, že 2,5-dimethyl-2H-pyrazol-3-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. HPLC: $R_t = 3,92$ minut (100% oblast). ^1H NMR (DMSO) δ 10,02 (s, 1H), 8,74 (d, 1H, $J = 3,6$ Hz), 8,49 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 8,13 (d, 1H, $J = 16,3$ Hz), 8,03 (s, 1H), 7,96-7,93 (m, 2H), 7,84-7,72 (m, 4H), 7,63 (d, 1H, 8,1 Hz), 7,42 (dd, 1H, $J = 6,8, 1,5$ Hz), 6,95 (s, 1H), 4,11 (s, 1H), 2,48 (s, 1H), 2,32 (s, 1H).

Příklad 41(ii)

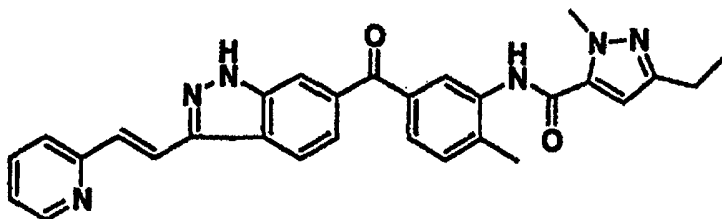
6-[3-((1-n-propyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)-4-methylbenzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(ii) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(ee) kromě toho, že 5-methyl-2-propyl-2H-pyrazol-3-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. HPLC: Rt 4,16 minut (100% oblast). ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 10,29 (s, 1H), 8,58 (d, 1H, 3,9 Hz), 8,33 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 8,13 (s, 1H), 8,10 (dt, 1H, J = 5,4, 2,1 Hz), 7,96 (d, 1H, J = 16,5 Hz), 7,87 (s, 1H), 7,78 (td, 1H, J = 7,5, 1,5 Hz), 7,61-7,49 (m, 6H), 7,24 (dd, 1H, J = 6,9, 1,8 Hz), 4,32 (t, 2H, J = 6,90 Hz), 2,58 (s, 3H), 2,22 (s, 3H), 1,69 (q, 2H, J = 7,2 Hz), 0,77 (t, 3H, 7,5 Hz). HRMS (MALDI) $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+/\text{z}$: vypočteno 505,2347, změřeno 505,2343.

Příklad 41(jj)

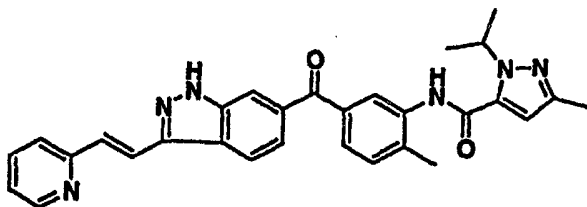
6-[3-((3-ethyl-1-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)-4-methylbenzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(jj) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(ee) kromě toho, že 5-ethyl-2-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 10,78 (s, 1H), 9,43 (d, 1H, J = 3,0 Hz), 9,15 (t, 1H, J = 9,6 Hz), 8,82 (dd, 1H, J = 16,4, 1,5 Hz), 8,72-8,61 (m, 2H), 8,52-8,30 (m, 4H), 8,10 (dd, 1H, J = 6,9, 5,7), 7,93-7,89 (m, 1H), 7,72-7,69 (m, 1H), 4,85 (s, 3H), 3,39 (q, 2H, J = 7,8 Hz), 3,17 (s, 3H), 2,10 (t, 3H, J = 7,5 Hz). HRMS (MALDI) $\text{C}_{29}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}^+$) m/z : vypočteno 491,2190, změřeno 491,2211.

Příklad 41(kk)

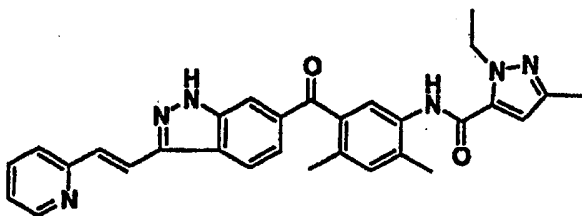
6-[3-((1-isopropyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)-4-methylbenzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(kk) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(ee) kromě toho, že 2-isopropyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. HPLC: Rt 4,11 minut (100% oblast). ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 9,99 (s, 1H), 8,68 (d, 1H, J = 3,6 Hz), 8,42 (d, 1H, J = 8,7 Hz), 8,07 (d, 1H, J = 16,4 Hz), 7,98 (s, 1H), 7,67-7,86 (m, 2H), 7,77-7,65 (m, 4H), 7,56 (d, 1H, J = 7,8 Hz), 7,37-7,33 (m, 1H), 6,82 (s, 2H), 5,44-5,36 (m, 1H), 2,42 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 1,42 (d, 6H, J = 6,6 Hz). Anal. ($\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_2 \cdot 0,2\text{H}_2\text{O}$) vypočteno: C, 56,3, N, 16,54, změřeno C, 70,57, H, 5,70, N, 16,35.

Příklad 41(11)

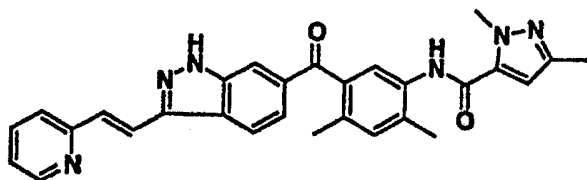
6-[2,4-dimethyl-5-((1-ethyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karbox-amido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 41(11) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 41(a) kromě toho, že sloučenina z příkladu 40(c) byla použita namísto sloučeniny z příkladu 40(a). ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 13,6 (s, 1H), 9,82 (s, 1H), 8,63 (d, 1H, $J = 3,84$ Hz), 8,35 (d, 1H, $J = 8,54$ Hz), 8,00 (d, 1H, $J = 16,37$ Hz), 7,83 (s, 1H), 7,83 (td, 1H, $J = 7,65$ Hz, $J = 1,82$ Hz), 7,69 (d, 1H, $J = 7,89$ Hz), 7,65 (dd, 1H, $J = 8,52$ Hz, $J = 1,36$ Hz), 7,62 (d, 1H, $J = 16,34$ Hz), 7,35 (s, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,29 (qd, 1H, $J = 7,42$ Hz, $J = 1,09$ Hz), 6,78 (s, 1H), 4,39 (q, 2H, $J = 7,15$ Hz), 2,30 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 1,27 (t, 3H, $J = 7,15$ Hz). LCMS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 505, změřeno 505.

Příklad 41(mm)

6-[2,4-dimethyl-5-((1,3-dimethyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)-benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

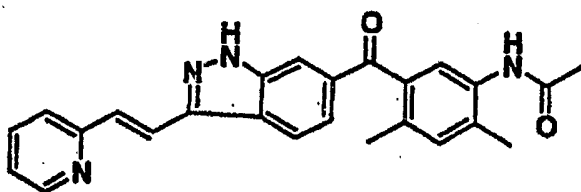


Sloučenina z příkladu 41(mm) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(11) kromě toho, že 2,5-dimethyl-2H-pyrazol-3-karboxylová kyselina byla použita

namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,6 (s, 1H), 9,81 (s, 1H), 8,62 (d, 1H, J = 3,81 Hz), 8,35 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 8,00 (d, 1H, J = 16,36 Hz), 7,83 (dt, 1H, J = 7,65 Hz, J = 1,8 Hz), 7,8 (s, 1H), 7,69 (d, 1H, J = 7,88 Hz), 7,65 (dd, 1H, J = 8,53 Hz, J = 1,36 Hz), 7,62 (d, 1H, J = 16,35 Hz), 7,36 (s, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,29 (qd, 1H, J = 7,41 Hz, J = 1,03 Hz), 6,79 (s, 1H), 3,96 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,18 (s, 3H). LCMS (ESI+) $[M+H]/z$ vypočteno 491, změřeno 491. Anal. výpočet: C, 71,00, H, 5,34, N, 17,13. Změřeno: C, 70,69, H, 5,57, N, 16,26.

Příklad 41(nn)

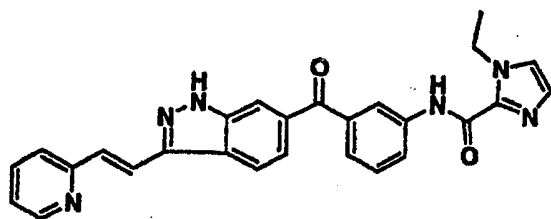
6-(5-acetamido-2,4-dimethylbenzoyl)-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol



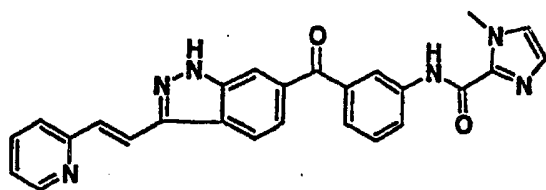
Sloučenina z příkladu 41(nn) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(ll) kromě toho, že acetylchlorid byl použit namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,6 (š s, 1H), 9,34 (s, 1H), 8,62 (d, 1H, J = 4,15 Hz), 8,33 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 7,86 (d, 1H, J = 16,36 Hz), 7,83 (td, 1H, J = 7,71 Hz, J = 1,82 Hz), 7,81 (s, 1H), 7,69 (d, 1H, J = 7,84 Hz), 7,64 (dd, 1H, J = 1,38 Hz), 7,62 (d, 1H, J = 16,46 Hz), 7,48 (s, H), 7,29 (qd, 1H, J = 7,44 Hz, J = 1,02 Hz), 7,24 (s, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 2,02 (s, 3H). LCMS (ESI+) $[M+H]/z$ vypočteno 411, změřeno 411.

Příklady 41(oo)-41(111) mohou být připraveny podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 41(a).

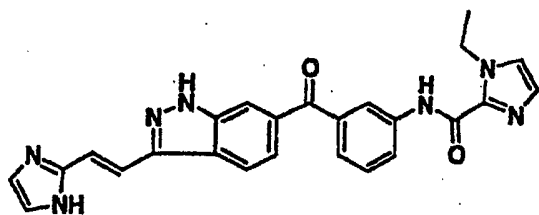
Příklad 41(oo)



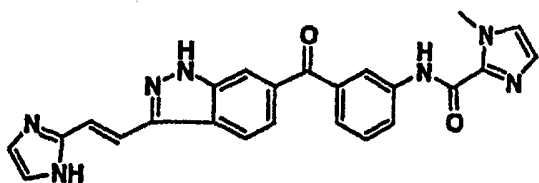
Příklad 41(pp)



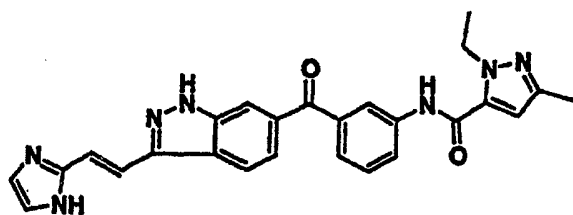
Příklad 41(qq)



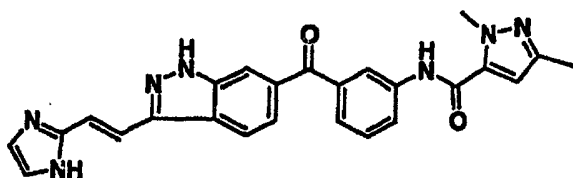
Příklad 41(rr)



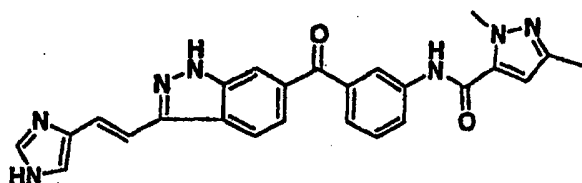
Příklad 41(ss)



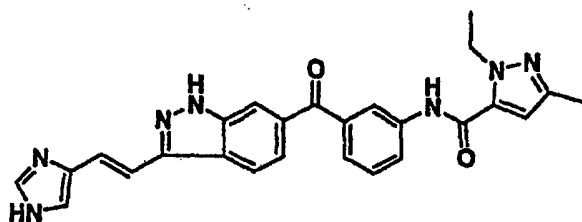
Příklad 41(tt)



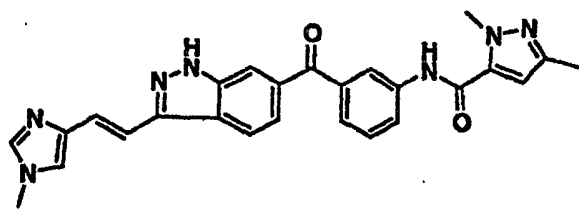
Příklad 41(uu)



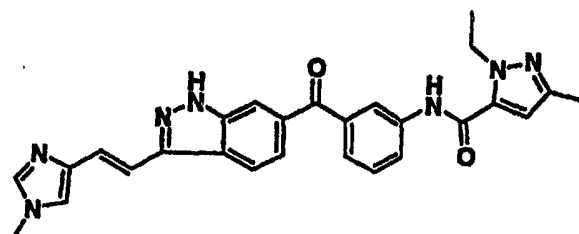
Příklad 41(vv)



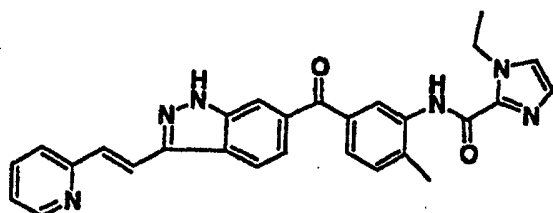
Příklad 41 (ww)



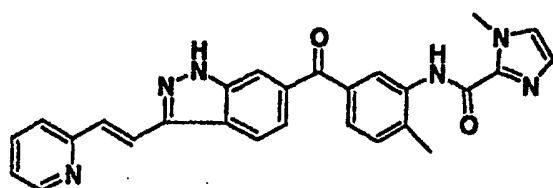
Příklad 41 (xx)



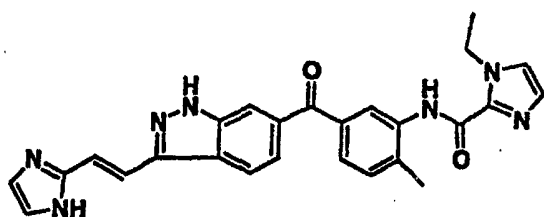
Příklad 41 (yy)



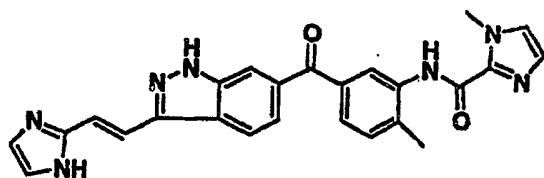
Příklad 41 (zz)



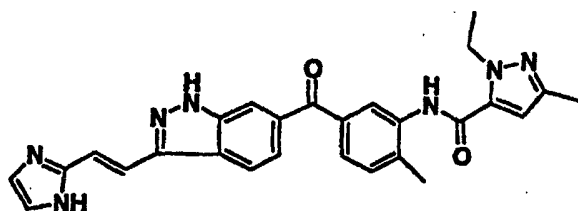
Příklad 41 (aaa)



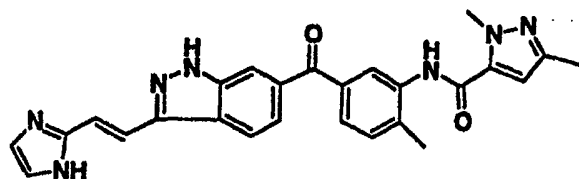
Příklad 41 (bbb)



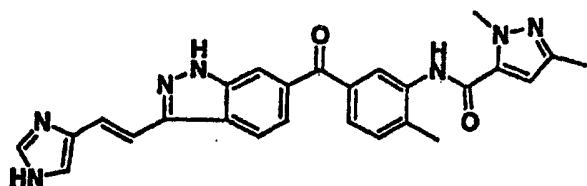
Příklad 41 (ccc)



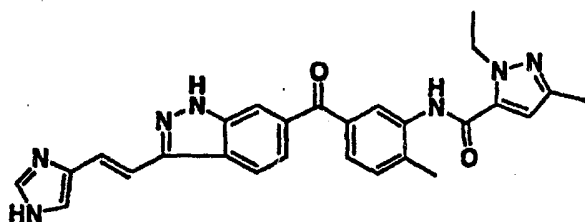
Příklad 41 (ddd)



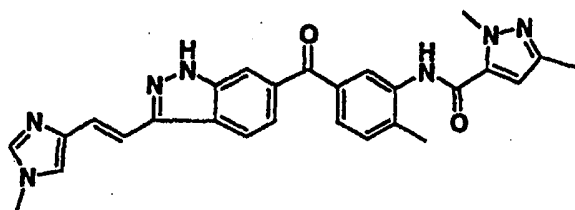
Příklad 41(eee)



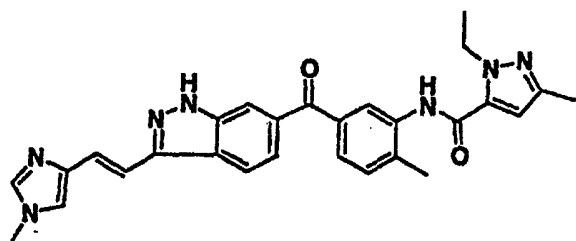
Příklad 41(fff)



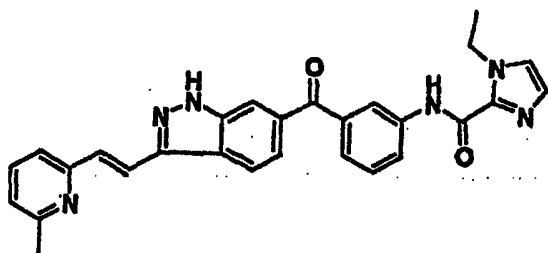
Příklad 41(ggg)



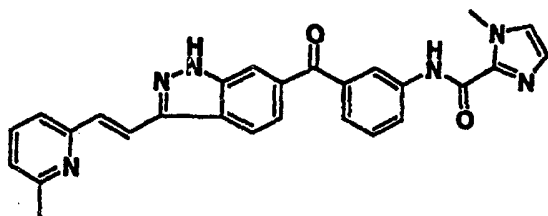
Příklad 41(hhh)



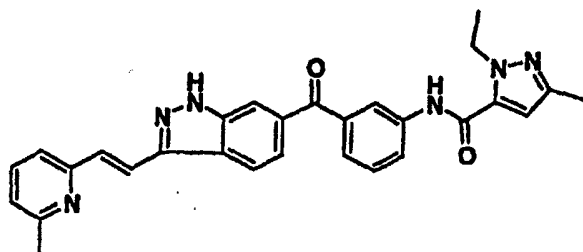
Příklad 41(iii)



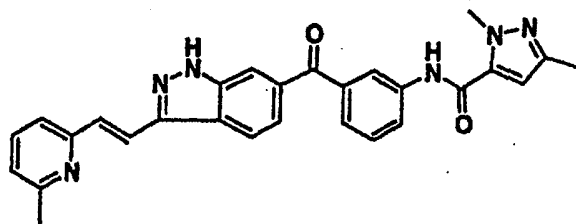
Příklad 41(jjj)



Příklad 41(kkk)

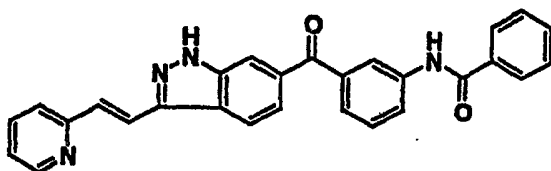


Příklad 41(lll)



Příklad 42(a)

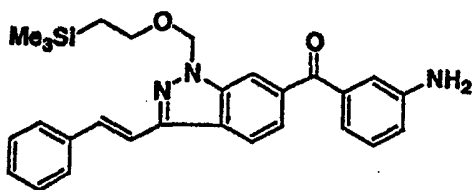
6-(3-benzamidobenzoyl)-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



0,58 g (80,6%) sloučeniny z příkladu 42(a) bylo připraveno z 6-(3-benzamidobenzoyl)-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu podobným způsobem, jako v příkladu 12. HPLC 4,13 minut (98% oblast). ^1H NMR(CDCl_3) δ 8,66 (d, 1H, $J = 4,1$ Hz), 8,24 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 8,11-8,10 (m, 3H), 8,01-7,98 (m, 4H), 7,83 (t, 2H, $J = 7,1$ Hz), 7,72-7,53 (m, 7H), 7,30 (qd, 1H, $J = 52, 1,1$ Hz). HRMS (MALDI) $\text{C}_{28}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2$. $[\text{M}+\text{H}^+]/z$: vypočteno 445,1664, změřeno 445,1659. Anal. ($\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_2 \cdot 0,2\text{EtOAc}$): C, 75,87, H, 4,78, N, 12,39.

Výchozí látka byla připravena takto:

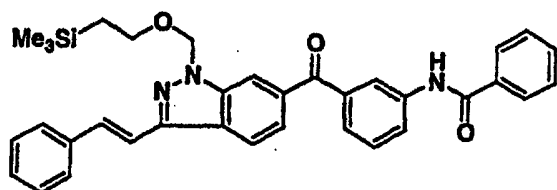
(i)



K míchanému roztoku 4,00 g (8,40 mmol) 6-jod-3-((E)styryl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu z příkladu 14, krok (i), v 48 ml anisolu v argonové atmosféře bylo 176 mg (0,25 mmol) přidáno bis(trifenylfosfin)-palladiumdichloridu, 288 mg (1,0 mmol) TBACl, 1,54 ml (16,8 mmol) 2-butanolu a 3,48 g (25,2 mmol) uhličitanu draselného. Výsledná směs byla míchána v atmosféře oxidu uhelnatého v 80 °C po dobu 100 hodin. Po odstranění rozpouštědla

koncentrací ve vakuu byl získaný zbytek naředěn 400 ml EtOAc a extrahován 2 x 150 ml saturovaného NaCl, 2 x 50 ml saturovaného NaHCO₃ a 2 x 50 ml vody, pak byla organická vrstva filtrována přes 20 ml silikagelu. Organický filtrát pak byl koncentrován ve vakuu za vzniku jantarového oleje. Purifikace velmi rychlou chromatografií se směsí hexanu a EtOAc (7:3) poskytla po koncentraci 2,38 g (61 % výtěžek) 6-(3-amino-benzoyl)-3-((E)styryl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu jako jantarového oleje. ¹H NMR (CDCl₃) δ 8,84 (dd, 1H, J = 8,70, 0,90 Hz), 8,02 (s, 1H), 7,77 (dd, 1H, J = 8,40, 1,50 Hz), 7,62-7,59 (m, 2H), 7,40 (t, 2H, J = 7,20 Hz), 7,38-7,24 (m, 4H), 7,22-7,19 (m, 3H), 6,98 (dq, 1H, J = 8,30, 0,90 Hz), 3,83 (š s, 2H), 3,61 (t, 2H, J = 8,10 Hz), 0,91 (t, 2H, J = 7,20 Hz), -0,17 (s, 9H).

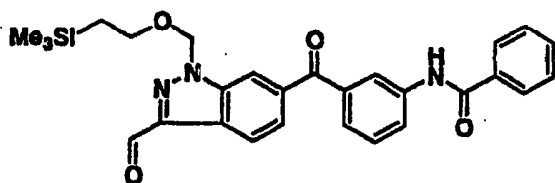
(ii)



K míchanému roztoku 3,22 g (6,87 mmol) 6-(3-aminobenzoyl)-3-((E)styryl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu v 10 ml methylenchloridu v argonové atmosféře bylo přidáno 0,95 ml (8,37 mmol) benzoylchloridu a 0,67 ml (3,22 mmol) pyridinu. Po 2 hodinách byl roztok naředěn 100 ml EtOAc a promyt 1 x 50 ml saturovaného NaCl, 2 x 50 ml kyseliny citronové (1M, pH 2,5) a 2 x 50 ml směsí NaHCO₃ a vody (50:50). Organická vrstva byla usušena nad Na₂SO₄ a filtrována přes 20 ml silikagelu. Organická vrstva byla koncentrována ve vakuu, za vzniku produktu jako žluté pevné látky. Purifikace s použitím velmi rychlé chromatografie na silikagelu za eluce směsí hexanu a EtOAc (7:3) poskytla 3,22 g (85,1% výtěžek)

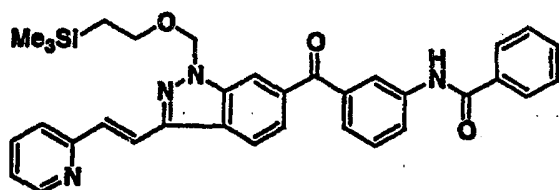
6-(3-benzamidobenzoyl)-3-((E)styryl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu jako žluté pěny. ^1H NMR (CDCl_3) δ 8,19 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 8,16 (s, 1H), 8,11-8,10 (m, 2H), 8,03-7,93 (m, 3H), 7,82 (dd, 1H, $J = 8,4, 1,2$ Hz), 7,70-7,67 (m, 3H), 7,64-7,54 (m, 5H), 7,48 (t, 2H, $J = 14,1$ Hz) 7,39 (1H, d, $J = 7,2$ Hz).

(iii)



Míchaný roztok 2,35 g (4,07 mmol) 6-(3-benzamidobenzoyl)-3-((E)styryl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu v 45,6 ml methylenchloridu byl ochlazen na -45°C s použitím lázně se směsí acetonitrilu a pevného oxidu uhličitého. Roztokem pak byl probubláván ozón rychlostí 1,5 l/m, 60 A po dobu 15 minut. Reakční směs byla zastavena přidáním 2,5 ml sirovodíku a zahřáta na 25°C . Odstranění methylenchloridu bylo uskutečněno pomocí koncentrace ve vakuu. Zbytek byl purifikován na silikagelu za eluce směsí hexanu a EtOAc (7:3) za vzniku 1,74 g (85% výtěžek) 6-(3-benzamidobenzoyl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karboxaldehydu jako špinavě bílé pěny. HPLC 3,78 minut (100% oblast), ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 10,77 (s, 1H), 10,42 (s, 1H), 8,46-8,39 (m, 2H), 8,31 (dt, 1H, $J = 6,0, 1,8$ Hz), 8,19 (s, 1H), 8,11-8,07 (m, 2H), 7,91 (dd, 1H, $J = 6,0, 1,2$ Hz), 7,70-7,64 (m, 5H), 5,81 (s, 2H) 3,68 (t, 2H, $J = 6,9$ Hz), 0,98 (t, 2H, $J = 6,7$ Hz), 0,02 (s, 9H).

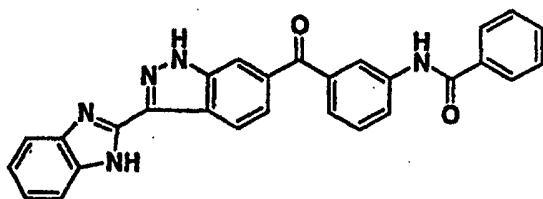
(iv)



K míchanému roztoku 2,23 g (4,91 mmol) 2-pikolytrifenyl-fosfoniumchloridu/hydridu sodného ochlazenému na -78°C bylo přidáno 1,26 g (2,46 mmol) 6-(3-benzamidobenzoyl)-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karboxaldehydu v 5 ml bezvodého THF v argonové atmosféře a roztok byl míchán po dobu 1 hodiny při teplotě 0°C a zastaven směsí CH_3COOH a MeOH (1:1,1 ml). Reakční směs byla naředěna 100 ml EtOAc a rozdělena mezi 1 x 50 ml saturovaného NaCl a 2 x 50 ml saturovaného NaHCO_3 , pak byla organická vrstva usušena nad Na_2SO_4 a filtrována přes krátký sloupec 20 ml silikagelu (směs trans/cis 3:1). Purifikace na kruhové desce se 4 mm silikagelu za eluce směsí hexanu a EtOAc (1:1) poskytla po koncentraci 1,05 g (62 %) 6-(3-benzamidobenzoyl)-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu jako žluté pevné látky. ^1H NMR (CDCl_3) δ 8,62 (d, 1H, $J = 4,1$ Hz), 8,22 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 8,11-8,10 (m, 3H), 8,01-7,98 (m, 4H), 7,83 (t, 2H, $J = 7,1$ Hz), 7,72-7,53 (m, 7H), 7,30 (qd, 1H, $J = 5,2, 1,1$ Hz), 5,81 (s, 2H), 3,68 (t, 2H, $J = 6,9$ Hz), 0,98 (t, 2H, $J = 6,7$ Hz), 0,02 (s, 9H).

Příklad 42 (b)

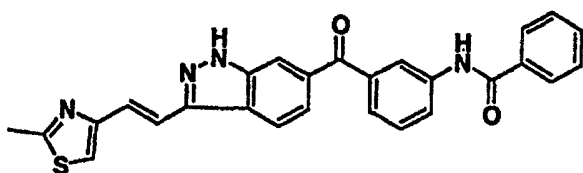
6-(3-benzamidobenzoyl)-3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 42(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 42(a) kromě toho, že krok (iv) byl nahrazen následujícím: k aldehydu připravenému v příkladu 42(a), krok (iii), bylo přidáno 0,011 g (0,11 mmol) 1,2-diaminobenzenu, 0,4 g (0,1201 mmol) elementární síry, (čistota dle lékopisu USA), 2 ml bezvodého DMF a směs byla zahřáta na 90 °C po dobu 18 hodin a ochlazená na 25 °C. Reakční směs byla naředěna 10 ml ethylacetátu a byla promyta 1 x 10 ml saturovaného NaCl, 1 x 10 ml NaHCO₃ a 10 ml vody, usušena nad NaSO₄ a filtrována přes teflonový filtr 0,22 µm a koncentrována za vzniku jantarového oleje. Purifikace chromatografií s kruhovou deskou následovaná precipitací ze 2 ml methylenchloridu a 2 ml hexanu poskytla meziprodukt jako bílý precipitát. ¹H NMR (aceton-d₆) δ 8,81 (d, 1H, J = 8,6), 8,30-8,25 (m, 2H), 8,11 (s, 1H), 8,02-7,99 (m, 2H), 7,79 (td, 2H, J = 12,2, 1,2 Hz), 7,63-7,47 (m, 7H), 7,28-7,40 (m, 2H). HRMS (MALDI) m/z C₂₈H₁₉N₅O₂ vypočteno (M+H⁺): 458,1617, změřeno 458,1632.

Příklad 42(c)

6-(3-benzamidobenzoyl)-3-E-[2-(2-methylthiazol-4-yl)ethenyl]-1H-indazol

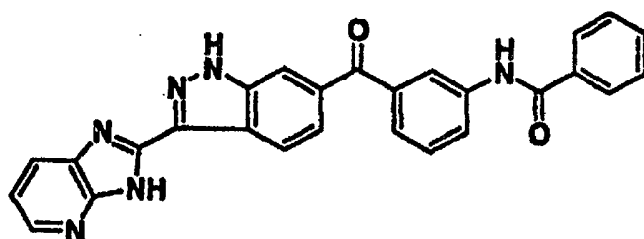


Sloučenina z příkladu 42(c) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 42(a) kromě toho, že 4-(2-methylthiazyl)methyltrifenylfosfoniumchlorid byl použit namísto 2-pikolytrifenylfosfoniumchloridu v kroku (iv). ¹H NMR (DMSO) δ 8,11-8,01 (m, 4H), 7,92 (d, 2H, J = 6,9 Hz), 7,76-7,71 (m,

2H), 7,65-7,62 (m, 1H), 7,56-7,48 (m, 5H), 7,15 (s, 1H), 2,81 (s, 3H). HRMS (MALDI) $C_{27}H_{20}N_4O_2S$ $[M+H^+]/z$: vypočteno ($M+H^+$) 465,1380, změřeno 465,1373.

Příklad 42(d)

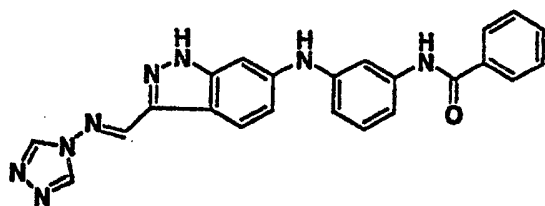
6-(3-benzamidobenzoyl)-3-(3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-yl)-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 42(d) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 42(b) kromě toho, že 1,2-diamin-2-pyridin byl použit namísto 1,2-diaminbenzenu. HPLC: 3,88 minut (95% oblast), ^1H NMR ($DMSO-d_6$) δ 10,62 (s, 1H), 8,83 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 8,53 (s, 1H), 8,43 (s, 1H), 8,32 (dt, 1H, $J = 6,9, 1,8$ Hz), 8,15 (d, 1H, $J = 12,9$ Hz), 8,11-8,10 (m, 2H), 7,91 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz), 7,72-7,65 (m, 6H), 7,43 (dd, 1H, $J = 6,3, 4,5$ Hz). HRMS (MALDI) m/z $C_{27}H_{18}N_6O_2$ vypočteno ($M+H^+$): 459,1564, změřeno 459,1558. Anal. ($C_{27}H_{18}N_6O_2 \cdot 0,4 CH_2Cl_2$): vypočteno C, 66,83, H, 3,85, N, 17,07. Změřeno: C, 66,93, H, 4,04, N, 16,68.

Příklad 42(e)

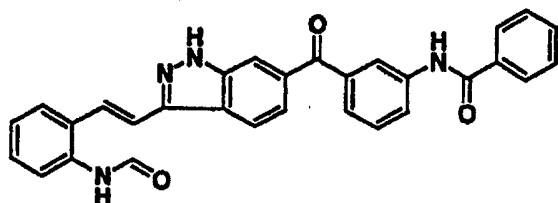
6-(3-benzamidobenzoyl)-3-E-[N-(4H-1,2,4-triazol-4-yl)imino-methyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 42(e) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 42(a) kromě toho, že 4-amino-1,2,4-triazol a PPTS byly použity v 80 °C namísto 2-pikolytrifenyfosfoniumchloridu/hydridu draselného ve 23 °C. HPLC: Rt = 4,05 minut (96% oblast), ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 10,58 (s, 1H), 9,53 (s, 1H), 9,40 (s, 2H), 8,56 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 8,38 (s, 1H), 8,26 (dt, 1H, J = 7,2, 2,1 Hz), 8,13 (s, 1H), 8,08–8,05 (m, 2H), 7,73–7,67 (m, 5H). HRMS (MALDI) $\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}^+]/z$. Vypočteno 436,1516, změřeno 436,1510. Anal. ($\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_2 \cdot 0,4$ hexan) vypočteno C, 66,18, H, 4,67, N, 20,47. Změřeno: C, 65,78, H, 4,87, N, 20,47.

Příklad 43

6-(3-benzamidobenzoyl)-3-E-[2-(2-formamidofenyl)ethenyl]-1H-indazol

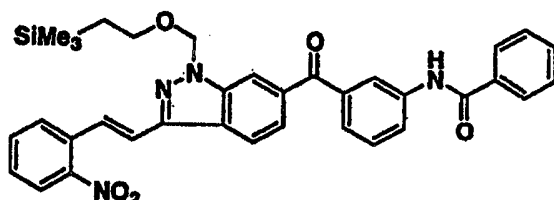


18 mg (36 %) sloučeniny z příkladu 43 bylo připraveno z 6-(3-benzamidobenzoyl)-3-E-(2-formamidofenyl)ethenyl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 11. HPLC: Rt = 4,19 minut ^1H NMR (CDCl_3) δ 8,43–7,92 (m, 6H), 7,68–7,49 (m, 4H) 7,39–7,36 (m, 3H), 7,32–7,21 (m, 2H), 7,09–7,00 (m, 2H), 6,91–6,84 (m, 1H). HRMS (MALDI) $\text{C}_{30}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{Na}]/z$: vypočteno 509,1590, změřeno

509,1580. Anal. ($C_{30}H_{22}N_4O_3 \cdot 0,3H_2O$) vypočteno: C, 73,25, H, 4,63, N, 11,39. Změřeno: C, 73,10, H, 4,58, N, 11,28.

Výchozí látka byla připravena takto:

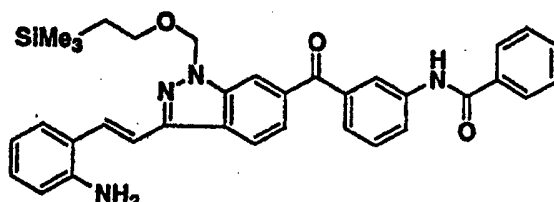
(i)



6-(3-benzamidobenzoyl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karboxaldehyd (připravený v příkladu 42(a), krok (iii)) byl konvertován na 6-(3-benzamidobenzoyl)-3-E-(2-nitrofenyl)ethenyl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-

1H-indazol podobným způsobem jako v příkladu 42(a), krok (iv), kromě toho, že monohydrát (2-nitrobenzyl)-trifenylfosfoniumbromidu byl použit namísto 2-pikolytrifenylfosfoniumchloridu (0,19 g, 79 %). ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 8,15-7,93 (m, 5H), 7,89-7,86 (m, 3H), 7,54-7,41 (m, 6H), 7,36-7,35 (m, 2H), 7,21-7,18 (m, 2H), 7,03-6,91 (m, 1H), 3,64-3,46 (m, 2H), 0,96-0,79 (m, 2H), -0,06 (s, 9H).

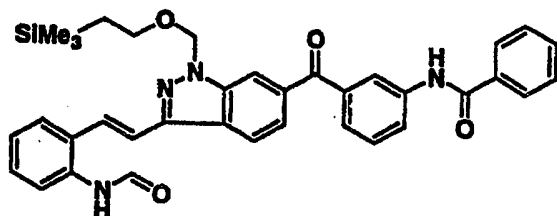
(ii)



0,19 (0,32 mmol) 6-(3-benzamidobenzoyl)-3-E-(2-nitrofenyl)ethenyl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu bylo rozpuštěno ve 3 ml DMF, podrobena působení 0,26 g (1,40 mmol) $SnCl_2$ a 0,037 ml (1,87 mmol) vody a bylo mícháno po dobu

3 hodin v 50 °C. Reakce byla zastavena v 25 °C s 0,5 ml 3N NaOH a precipitát byl odstraněn filtrací přes celit. Roztok pak byl rozdělen mezi 2 x 30 ml směsi saturovaného NaHCO₃ a vody (50/50) a organická vrstva byla filtrován přes krátký sloupec silikagelu za vzniku 0,17 g (92 %) 6-(3-benzamido-benzoyl)-3-E-(2-aminofenyl)ethenyl-1-(2-trimethylsilanyl-ethoxymethyl)-1H-indazolu, jako jantarového oleje. Produkt byl použit bez další purifikace.

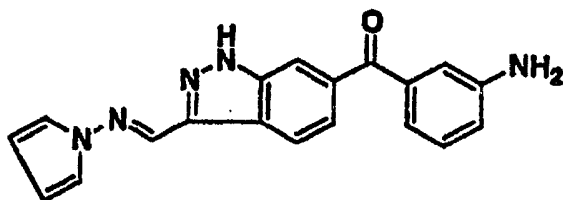
(iii)



0,17 (0,28 mmol) 6-(3-benzamidobenzoyl)-3-E-(2-amino-fenyl)ethenyl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu bylo rozpuštěno ve 3 ml methylenchloridu. K tomuto roztoku bylo po kapkách přidáno 0,12 g (0,56 mmol) pentafluor-fenylesteru kyseliny mravenčí. Po 3 hodinách byla reakční směs naředěna 40 ml EtOAc a byla promyta 2 x 30 ml 50/50 NaHCO₃ a organická vrstva byla filtrována přes krátký sloupec silikagelu. Zbytek byl purifikován chromatografií s kruhovou deskou na silikagelu za eluce směsí hexanu a EtOAc a CH₂Cl₂ (1:1:1), která poskytla 63 mg (40 %) 6-(3-benzamidobenzoyl)-3-E-(2-formamidofenyl)ethenyl-1-(2-trimethylsilanylethoxy-methyl)-1H-indazolu jako čirého oleje. ¹H NMR (CDCl₃) δ 8,48-8,36 (m, 1H), 8,20-7,84 (m, 4H), 7,61-7,52 (m, 5H), 7,41-7,32 (m, 4H), 7,26-7,01 (m, 4H), 6,82 (t, 1H, J = 14,2 Hz), 3,48-3,23 (m, 2H), 0,95-0,87 (m, 2H), -0,05 (s, 9H).

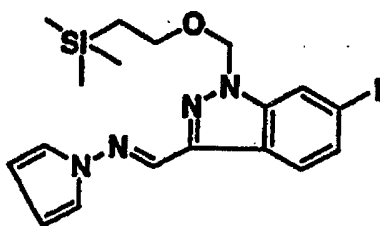
Příklad 44

6-(3-aminobenzoyl)-3-E-[N-(pyrol-1-yl)iminomethyl]-1H-indazol



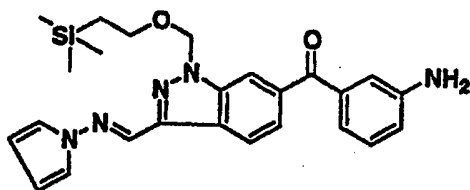
Sloučenina z příkladu 44 byla připravena z výchozí látky popsané níže podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 12. R_f sm 0,6, p 0,5 (ethylacetát): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,8 (s, 1H), 8,5 (d, 1H), 7,95 (s, 1H), 7,75 (d, 1H), 7,45–7,3 (m, 7H), 7,2 (m, 1H), 6,40 (s, 2H).

Výchozí látka byla připravena takto: (i)



204 mg (0,507 mmol) aldehydu připraveného v příkladu 33(a), krok (i), a 67 μl (0,66 mmol, 1,3 ekv.) 1-aminopyrolu bylo mícháno společně ve 2 ml toluenu. K této směsi byl přidán 1 mg PPTS a roztok byl zahříván na 80 °C po dobu 1 hodiny. Směs byla ochlazená a byla rozdělena mezi 2:8 směs ethylacetátu a hexanu a vodu. Organická látka byla usušena nad sulfátem sodným, dekantována a koncentrována při sníženém tlaku. 215,7 mg (91 %) produktu bylo krystalizováno z 0,5 ml dichlormethanu a 2 ml methanolu: ^1H NMR (300 MHz, C_6D_6) δ 8,71 (s, 1H), 8,25 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 8,08 (s, 1H), 7,75 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 6,35 (s, 2H), 5,85 (s, 2H).

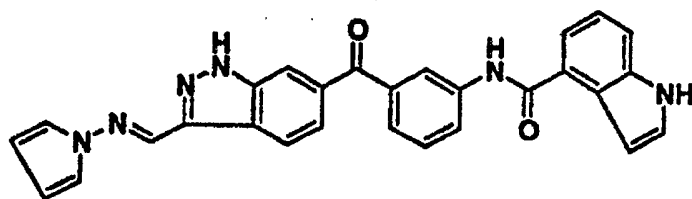
(ii)



Směs 535 mg (1,15 mmol, 1 ekv.) výše uvedeného jodidu, 236 mg (1,72 mmol, 1,5 ekv.) 3-aminofenylboronové kyseliny, 24 mg (0,034 mmol, 0,03 ekv.) $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ a uhličitanu draselného byla nabrána do 6,7 ml anisolu v atmosféře oxidu uhelnatého, 101.325 kPa (1 atm). Směs byla zahřívána na 80 °C po dobu 14 hodin. Směs byla ochlazená, rozdělena mezi ethylacetát a vodu. Organické vrstvy byly promyty saturovaným vodným hydrouhličitanem sodným, vodou a solankou a organická vrstva byla oddělena. Organická látka byla usušena nad sulfátem sodným, dekantována a koncentrována při sníženém tlaku. Purifikace chromatografií na silikagelu (50 ml silikagelu, 2:8 až 3:7 směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 331 mg (63 %) anilinu jako pevné látky: R_f sm 0,60, p 0,21 (směs ethylacetátu a hexanu 3:7), ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,75 (s, 1H), 8,51 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 8,06 (s, 1H), 7,76 (dd, 1H, $J = 1,3, 8,4$ Hz), 7,26 (m, 3H), 7,17 (m, 2H), 6,92 (m, 1H), 6,31 (t, 1H, $J = 2,3$ Hz), 5,79 (s, 2H), 3,84 (š s, 2H), 3,60 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), 0,91 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), -0,08 (s, 9H). LCMS 4,98 minut (poz) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 460, změřeno 460.

Příklad 45(a)

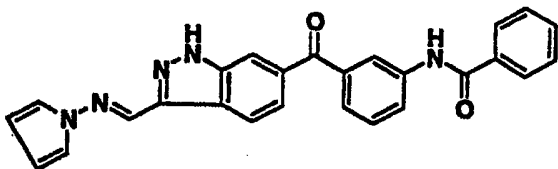
6-[3-(indol-4-ylkarboxamido)benzoyl]-3-E-[N-(pyrol-1-yl)iminomethyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 45(a) byla připravena podle příkladu 44 podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 12(d) kromě toho, že indol-4-karboxylová kyselina byla použita namísto 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny: R_f sm 0,0, p 0,2 (směs ethylacetátu a benzenu 1:3), ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 9,84 (s, 1H), 8,92 (s, 1H), 8,66 (s, 1H), 8,39 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 8,02 (s, 1H), 7,86 (m, 2H), 7,66 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,52-7,40 (m, 4H), 7,27-7,07 (m, 5H), 6,83 (s, 1H), 6,21 (s, 2H).

Příklad 45(b)

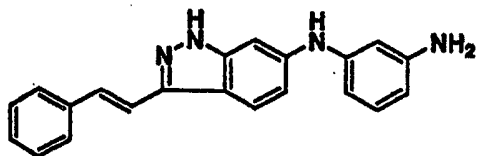
6-(3-benzamidobenzoyl)-3-E-[N-(pyrrol-1-yl)iminomethyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 45(b) byla připravena podle příkladu 44 podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 12(d) kromě toho, že benzoylchlorid byl použit namísto 5-methylthiazol-2-karboxylové kyseliny a HATU: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 11,9 (š s, 1H), 8,70 (s, 1H), 8,43 (s, 1H), 8,39 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,99 (s, 1H), 7,9-7,8 (m, 4H), 7,65 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,48 (t, 2H, $J = 7,8$ Hz), 7,42-7,35 (m, 3H), 7,20 (t, 2H, 2,2 Hz), 6,28 (t, 2H, $J = 2,2$ Hz).

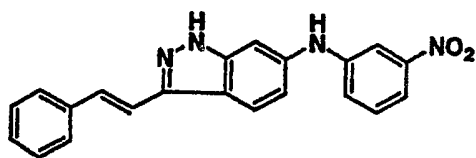
Příklad 46

6-[N-(3-aminofenyl)amino]-3-E-styryl-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 46 byla připravena z výchozí látky popsané níže podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 13(i). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12,6 (s, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,97 (d, 1H, $J = 8,73$ Hz), 7,69 (d, 1H, $J = 8,49$ Hz), 7,40 (m, 4H), 7,28 (m, 1H), 7,06 (d, 1H, $J = 1,49$ Hz), 6,44 (t, 1H, $J = 1,98$ Hz), 6,34 (m, 1H), 6,14 (dd, 1H, $J = 7,88$ Hz, $J = 1,26$ Hz), 5,01 (š s, 2H).

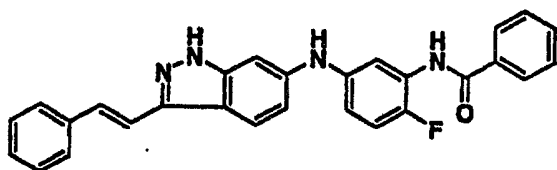
(i)



Sloučenina připravená v příkladu 11, krok (v), byla konvertována na 6-[N-(3-nitrofenyl)amino]-3-E-styryl-1H-indazol podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 12. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,0 (m, 2H), 7,77 (m, 1H), 7,64 (d, 2H, $J = 7,86$ Hz), 7,41-7,56 (m, 6H), 7,33 (m, 2H), 7,08 (d, 1H, $J = 8,67$ Hz). MS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]^+/z$ vypočteno 357, změřeno 357. Vypočteno: C, 70,77, H, 4,53, N, 15,72. Změřeno: C, 69,18, H, 4,51, N, 15,30.

Příklad 47

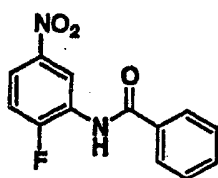
6-[N-(3-benzamido-4-fluorfenyl)amino]-3-E-styryl-1H-indazol



6-[N-(3-benzamido-4-fluorfenyl)amino]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl-3-E-styryl-1H-indazol) byl konvertován na sloučeninu z příkladu 47 podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 11. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12,6 (s, 1H), 10,0 (s, 1H), 8,38 (š s, 1H), 8,02 (d, 1H, $J = 8,78$), 7,98 (d, 2H, $J = 6,87$ Hz), 7,69 (d, 2H, $J = 7,27$ Hz), 7,48-7,61 (m, 4H), 7,45 (s, 2H), 7,40 (t, 2H, $J = 7,28$ Hz), 7,53-7,30 (t, 2H, $J = 7,28$ Hz), 7,53-7,30 m, 2H), 7,07 (d, 1H, $J = 1,55$ Hz), 7,03 (m, 1H), 6,95 (dd, 1H, $J = 8,79$ Hz, $J = 1,85$ Hz). MS (ESI+) $[M+H]^+/z$ vypočteno 449, změřeno 449. Anal. výpočet: C, 74,98. H, 4,72. N, 12,49. Změřeno: C, 74,29. H, 4,76. N, 12,12.

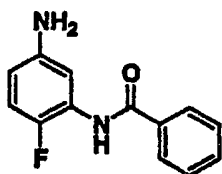
Výchozí látka byla připravena takto:

(i)



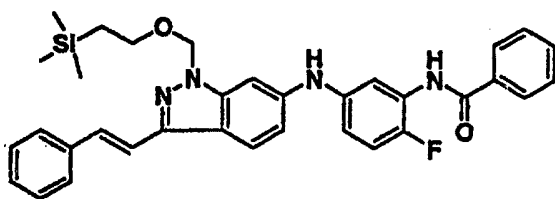
K roztoku 3,12 g (20 mmol) 2-fluor-5-nitrofenylaminu ve 20 ml dichlormethanu ve 23 °C v argonové atmosféře bylo přidáno 1,94 ml (24 mmol) pyridinu a 2,8 ml (24 mmol) benzoylchloridu. Po 45 minutách byl vytvořen bílý precipitát. Reakční směs byla koncentrována ve vakuu, pak byla naředěna vodou a filtrována za vzniku bílé pevné látky, která byla resuspendována v MeOH a opět filtrována za vzniku 4,86 g (93 %) N-(2-fluor-5-nitrofenyl)benzamidů. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9,48 (dd, 1H, $J = 6,8$ Hz, $J = 2,81$ Hz), 8,17 (š s, 1H), 8,03 (m, 1H), 7,92 (m, 2H), 7,52-7,65 (m, 3H), 7,31 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz).

(ii)



Směs 4,86 g (18,7 mmol) N-(2-fluor-5-nitrofenyl)benzamidu a 486 mg 10% Pd/C v 80 ml směsi 1:1 THF a MeOH byla sycena vodíkem ve 23 °C. Po 2,5 hodinách byla reakční směs filtrována přes celit a koncentrována za vzniku 3,92 g (91 %) N-(5-amino-2-fluorfenyl)benzamidu. MS (ESI+) [M+H]⁺/z vypočteno 231, změřeno 231.

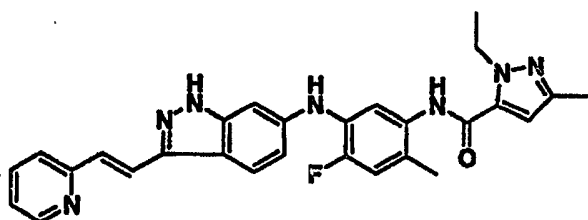
(iii)



6-[N-(3-benzamido-4-fluorfenyl)amino]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-3-E-styryl-1H-indazol byl připraven podobným způsobem, jako v příkladu 48(a), krok (iii), kromě toho, že N-(5-amino-2-fluorfenyl)benzamid a sloučenina připravená v příkladu 14, krok (i), byly použity jako výchozí látky. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,38 (dd, 1H, J = 6,84 Hz, J = 2,73 Hz), 8,09 (d, 1H, J = 3,08 Hz), 7,86-7,91 (m, 3H), 7,48-7,61 (m, 5H), 7,28-7,45 (m, 4H), 7,19 (d, 1H, J = 1,7 Hz), 7,08 (dd, 1H, J = 10,48 Hz), 6,90-6,96 (m, 2H), 6,03 (š s, 1H), 5,66 (s, 2H), 3,62 (t, 2H, J = 8,14 Hz), 0,91 (t, 2H, J = 8,32 Hz), 0,0 (s, 9H). MS (ESI+) [M+H]⁺/z vypočteno 579, změřeno 579. Anal. výpočet: C, 70,56. H, 6,10, N, 9,68. Změřeno: C, 70,26. H, 6,08. N, 9,16.

Příklad 48(a)

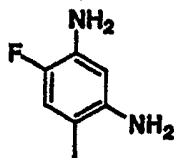
6-[N-(5-((1-ethyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)-2-fluor-4-methylfenyl)amino]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 48(a) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 41(a), z výchozí látky popsané níže. ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8,54 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz), 7,95 (d, 1H, $J = 9,49$ Hz), 7,84 (td, 1H, $J = 7,71$ Hz, $J = 1,78$ Hz), 7,70 (d, 1H, $J = 7,95$ Hz), 7,53 (d, 1H, $J = 16,59$ Hz), 7,40 (d, 1H, $J = 7,92$ Hz), 7,29 (qd, 1H, $J = 7,45$ Hz, $J = 1,07$ Hz), 7,11 (d, 1H, $J = 11,8$), 7,03-7,06 (m, 2H), 6,71 (s, 1H), 4,50 (q, 2H, $J = 7,16$ Hz), 2,27 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 1,38 (t, 3H, $J = 7,11$ Hz). MS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 496, změřeno 496. Anal. výpočet: C, 67,86, H, 5,29, N, 19,79. Změřeno: C, 66,24, H, 5,50, N, 18,61.

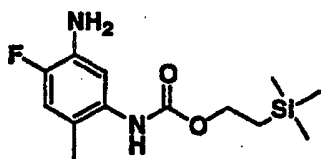
Výchozí látka byla připravena takto:

(i)



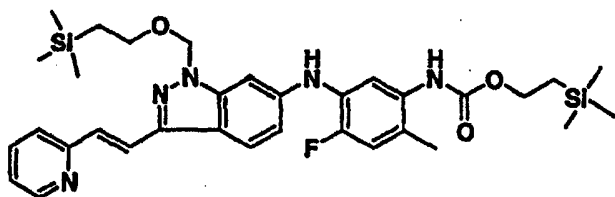
Směs 1,0 g (5 mmol) 1-fluor-5-methyl-2,4-dinitrobenzenu a 200 mg 10% Pd/C ve 20 ml MeOH byla sycena vodíkem ve 23 °C po dobu 24 hodin. Reakční směs byla filtrována přes celit a koncentrována. Purifikace chromatografií na silikagelu (1:1 směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 613 mg (87 %) 4-fluor-6-methylbenzen-1,3-diaminu.

(ii)



K roztoku 566 mg (2 mmol) 4-nitrofenylester-2-trimethylsilanylethylesteru uhličitě kyseliny ve 4 ml DMF ve 23 °C v argonové atmosféře bylo přidáno 12 mg (0,1 mmol) DMAP, 0,35 ml (2 mmol) DIEA a 4-fluor-6-methylbenzen-1,3-diamin. Výsledný roztok byl zahříván na 50 °C po dobu 48 hodin. Reakční směs byla zastavena saturovaným vodným NaHCO₃, a extrahována 3 x 20 ml EtOAc. EtOAc byl odstraněn ve vakuu a zbytek byl opět rozpuštěn v Et₂O, pak promyt 3N vodným NaOH, vodou, solankou, usušen nad Na₂SO₄, filtrován a koncentrován. Purifikace chromatografií na silikagelu (2:8 až 7:3 směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 160 mg (28 %) 2-trimethylsilanylethylesteru (5-amino-4-fluor-2-methylfenyl)karbamové kyseliny. MS (ESI+) [M+H]/z vypočteno 634, změřeno 634.

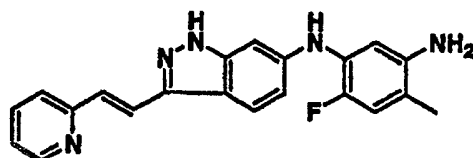
(iii)



Ke směsi 224 mg (0,47 mmol) 6-jod-3-((E)-2-pyridin-2-ylvinyl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu, 160 mg (0,56 mmol) 2-trimethylsilanylethylesteru 5-amino-4-fluor-2-methylfenyl)karbamové kyseliny, 214 mg (0,66 mmol) Cs₂CO₃, 5,4 mg, (0,0059 mmol) PdCl₂(PPh₃)₂ a 10 mg (0,0176 mmol) BINAP v argonové atmosféře ve 23 °C bylo přidáno 0,5 ml toluenu. Výsledná směs byla zahřívána na 80 °C po dobu 16 hodin.

Reakční směs byla ochlazena na 23 °C, a pak naředěna 20 ml vody a extrahována 3 x 50 ml EtOAc. Organické vrstvy byly promyty 30 ml vody, 30 ml solanky, usušeny nad Na₂SO₄, filtrovány a koncentrovány na pěnu. Chromatografie na koloně se silikagelem (3:7 směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 98 mg (33 %) 2-trimethylsilanylethylesteru {4-fluor-2-methyl-5-[3-((E)-2-pyridin-2-ylvinyl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-6-ylamino]fenyl}karbamové kyseliny. TLC (7:3 směs hexanu a ethylacetátu) R_f sm 0,42, R_f p 0,23. ¹H NMR (CDCl₃) δ 8,64 (dd, 1H, J = 4,79 Hz, J = 0,86 Hz), 7,94 (d, 1H, J = 8,71 Hz), 7,91 (š s, 1H), 7,86 (d, 1H, J = 16,41 Hz), 7,69 (td, 1H, J = 7,72 Hz, J = 1,8 Hz), 7,55 (d, 1H, J = 16,44 Hz), 7,49 (d, 1H, J = 7,91 Hz), 7,17 (qd, 1H, J = 7,44 Hz, J = 0,98 Hz), 6,99 (dd, 1H, J = 8,67 Hz, J = 1,89 Hz), 6,93 (d, 1H, J = 11,2 Hz), 6,25 (š s, 1H), 5,95 (d, 1H, J = 1,97 Hz), 5,70 (s, 2H), 4,25 (t, 2H, J = 8,53 Hz), 3,60 (t, 2H, J = 8,24 Hz), 2,22 (s, 3H), 1,04 (t, 2H, J = 8,54 Hz), 0,9 (t, 2H, J = 8,25 Hz), 0,05 (s, 9H), 0,0 (s, 9H). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 156,0, 154,4, 149,8, 142,9, 142,8, 142,5, 136,6, 132,1, 130,1, 130,5, 128,7, 128,5, 124,3, 122,2, 122,0, 121,8, 118,2, 117,3, 117,0, 115,1, 95,2, 77,6, 77,4, 66,5, 63,7, 17,9, 17,2, -1,3. FTIR cm⁻¹: 3326, 2947, 1716, 1617, 1534, 1514, 1244, 1057. MS (ESI+) [M+H]/z vypočteno 634, změřeno 634.

(iv)

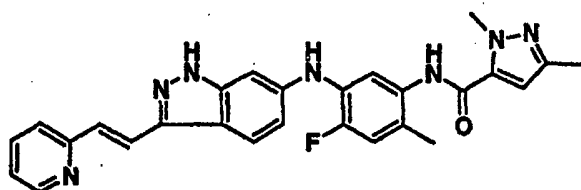


Výše uvedený anilin byl připraven podobným způsobem, jako v příkladu 11. ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 8,54 (m, 1H), 7,91 (dd, 1H, J = 8,74 Hz, J = 0,58 Hz), 7,83 (td, 1H, J = 7,72 Hz,

$J = 1,79 \text{ Hz}$), $7,80 \text{ (d, 1H, } J = 16,52 \text{ Hz)}$, $7,69 \text{ (d, 1H, } J = 7,98 \text{ Hz)}$, $7,52 \text{ (d, 1H, } J = 16,58 \text{ Hz)}$, $7,29 \text{ (qd, 1H, } J = 7,43 \text{ Hz, } J = 1,07 \text{ Hz)}$, $6,94\text{--}6,99 \text{ (m, 2H)}$, $6,83 \text{ (d, 1H, } J = 11,98 \text{ Hz)}$, $6,82 \text{ (d, 1H, } J = 7,49 \text{ Hz)}$, $2,15 \text{ (s, 3H)}$. MS (ESI+) $[M+H]/z$ vypočteno 360, změřeno 360.

Příklad 48(b)

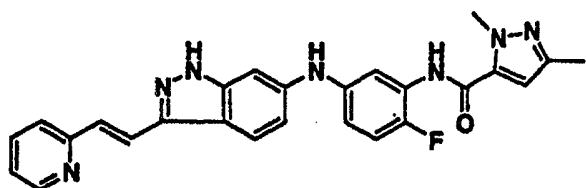
6-[N-(5-((1,3-dimethyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)-2-fluor-4-methylfenyl)amino]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 48(b) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 48(a) kromě toho, že 2,5-dimethyl-2H-pyrazol-3-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12,8 (s, 1H), 9,71 (s, 1H), 8,59 (m, 1H), 8,11 (s, 1H), 8,00 (d, 1H, $J = 8,75 \text{ Hz}$), 7,87 (d, 1H, $J = 16,37 \text{ Hz}$), 7,80 (td, 1H, $J = 7,66 \text{ Hz}$, $J = 1,81 \text{ Hz}$), 7,64 (d, 1H, $J = 7,88 \text{ Hz}$), 7,49 (d, 1H, $J = 16,38 \text{ Hz}$), 7,34 (d, 1H, $J = 8,16 \text{ Hz}$), 7,26 (m, 1H), 7,21 (d, 1H, $J = 12,14 \text{ Hz}$), 6,97 (dd, 1H, $J = 8,76 \text{ Hz}$), 6,88 (s, 1H), 6,79 (s, 1H), 3,98 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,19 (s, 3H). MS (ESI+) $[M+H]/z$ vypočteno 482, změřeno 482. Anal. výpočet: C, 67,35, H, 5,02, N, 20,36. Změřeno: C, 66,83, H, 5,25, N, 19,68.

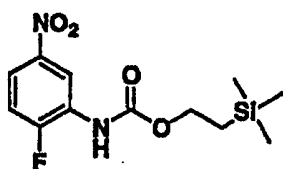
Příklad 49(a)

6-[N-(3-((1,3-dimethyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)-4-fluorfenyl)amino]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 49(a) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 48(a) kromě následujícího: 2,5-dimethyl-2H-pyrazol-3-karboxylová kyselina byla použita namísto 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny, v kroku (iii), 2-trimethylsilanylethylester (5-amino-2-fluorfenyl)karbamové kyseliny, připravený jak popsáno níže, byl použit namísto 2-trimethylsilanylethylesteru (5-amino-4-fluor-2-methylfenyl)karbamové kyseliny, rozpouštědlo bylo DME a jako ligand byl použit bifenyl-2-yl-dicyklohexylfosfan. ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 12,7 (s, 1H), 9,94 (s, 1H), 8,48 (m, 1H), 8,40 (s, 1H), 8,02 (d, 1H, $J = 6,77$ Hz), 7,87 (d, 1H, $J = 16,37$ Hz), 7,80 (d, 1H, $J = 7,63$ Hz, $J = 1,81$ Hz), 7,64 (d, 1H, $J = 7,88$ Hz), 7,49 (d, 1H, $J = 16,39$ Hz), 7,42 (dd, 1H, $J = 6,65$ Hz, $J = 2,68$ Hz), 7,24 (m, 2H), 7,06 (m, 2H), 6,96 (dd, 1H, $J = 8,81$ Hz, $J = 1,82$ Hz), 6,85 (s, 1H), 4,0 (s, 3H), 2,20 (s, 3H). MS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 468, změřeno 468. Anal. výpočet: C, 66,80, H, 4,74, N, 20,97. Změřeno: C, 66,01, H, 4,72, N, 20,81.

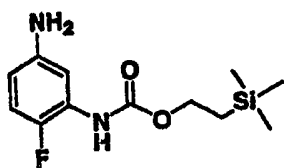
(i)



K roztoku 9,82 g (54 mmol) 1-fluor-2-isokyanato-4-nitrobenzenu ve 40 ml THF ve 23 °C v argonové atmosféře bylo přidáno 7,72 ml (54 mmol) 2-trimethylsilanylethanolu. Výsledná směs byla míchána po dobu 11 hodin, a pak zahřívána na 50 °C

po dobu 2 hodin. Reakční směs byla ponechána vychladnout na 23 °C, zastavena saturovaným vodným NaHCO₃ a extrahována 3 x 100 ml EtOAc. Sloučené ethylacetátové vrstvy byly promyty 2 x 90 ml 1N vodné HCl, 90 ml vody a 90 ml solanky, usušeny nad Na₂SO₄, filtrovány a koncentrovány na žlutou pevnou látku. Chromatografie na silikagelu (2:8 směs ethylacetátu a hexanu) poskytla 12,3 g (77 %) 2-trimethylsilanylethylesteru (2-fluor-5-nitrofenyl)karbamové kyseliny. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9,06 (dd, 1H, J = 6,89 Hz, J = 2,63 Hz), 7,89 (m, 1H), 7,20 (m, 1H), 6,91 (š s, 1H), 4,31 (t, 2H, J = 8,67 Hz), 1,06 (t, 2H, J = 8,67 Hz), 0,05 (s, 9H). LCMS (ESI-) [M+H]⁺/z vypočteno 299, změřeno 299.

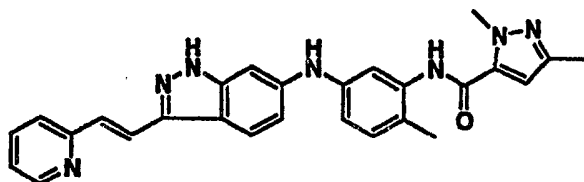
(ii)



Směs 3,00 g (10 mmol) 2-trimethylsilanylethylesteru (2-fluor-5-nitrofenyl)karbamové kyseliny a 300 mg 10% Pd/C ve 30 ml methanolu byla sycena vodíkem ve 23 °C. Výsledná směs byla míchána po dobu 24 hodin. Reakční směs byla filtrována přes celit a koncentrována za vzniku 2,62 g (97 %) 2-trimethylsilanylethylesteru (5-amino-2-fluorfenyl)karbamové kyseliny. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,52 (m, 1H), 6,85 (dd, 1H, J = 10,8 Hz, J = 8,69 Hz), 6,73 (š s, 1H), 6,28 (m, 1H), 4,27 (t, 2H, J = 8,57 Hz), 3,0-4,4 (š s, 2H), 1,06 (t, 2H, J = 8,58 Hz), 0,07 (s, 9H).

Příklad 49(b)

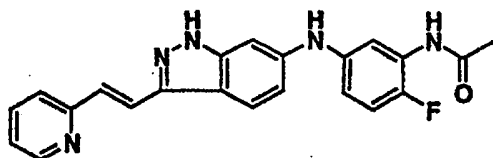
6-[N-(3-((1,3-dimethyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)-4-methyl-fenyl)amino]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



Sloučenina z příkladu 49(b) byla připravena podobným způsobem jako v příkladu 49(a) kromě toho, že 1-methyl-2-isokyanato-4-nitrobenzen byl použit namísto 1-fluor-2-isokyanato-4-nitrobenzen v kroku (i). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,59 (m, 1H), 8,35 (s, 1H), 8,00 (d, 1H, $J = 8,73$ Hz), 7,87 (d, 1H, $J = 16,38$ Hz), 7,80 (td, 1H, $J = 7,66$ Hz, $J = 1,85$ Hz), 7,64 (d, 1H, $J = 7,85$ Hz), 7,49 (d, 1H, $J = 16,35$ Hz), 7,26 (m, 1H), 7,19 (m, 2H), 7,09 (d, 1H, $J = 1,48$ Hz), 7,02 (dd, 1H, $J = 8,17$ Hz, $J = 2,24$ Hz), 6,97 (dd, 1H, $J = 8,79$ Hz, $J = 1,80$ Hz), 6,81 (š s, 1H), 4,00 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,18 (s, 3H). LCMS (ESI+) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 464, změřeno 464.

Příklad 49(c)

6-[N-(3-acetamido-4-fluorfenyl)amino]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol

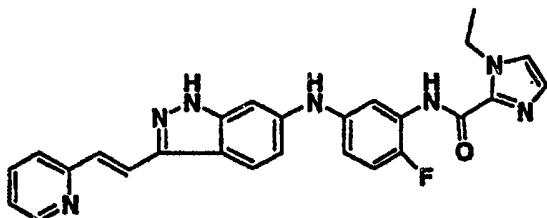


Sloučenina z příkladu 49(c) byla připravena podobným způsobem jako v příkladu 49(a) kromě toho, že acetanhydrid byl použit namísto 2,5-dimethyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny: ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8,44 (m, 1H), 7,82 (d, 1H), 7,70 (m, 3H), 7,55 (d, 1H), 7,41 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz), 7,19 (m, 1H),

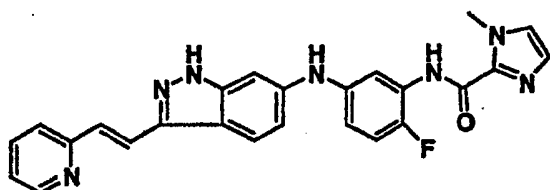
7,03 (s, 1H), 6,94 (m, 1H), 6,87 (m, 2H), 2,11 (s, 3H). LCMS (100% oblast) Rt = 4,53 minuty (poz) [M+H]⁺/z vypočteno 388,4, změřeno 388,4.

Příklady 49(d)-49(x) mohou být připraveny podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 49(a).

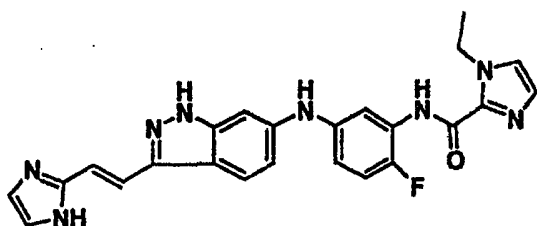
Příklad 49(d)



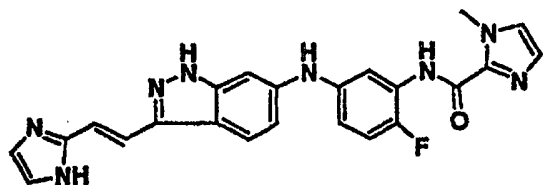
Příklad 49(e)



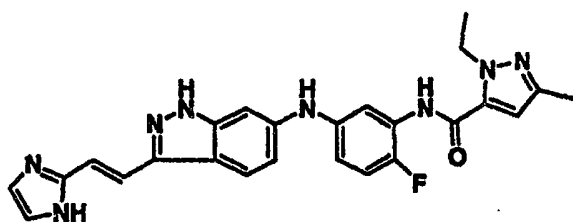
Příklad 49(f)



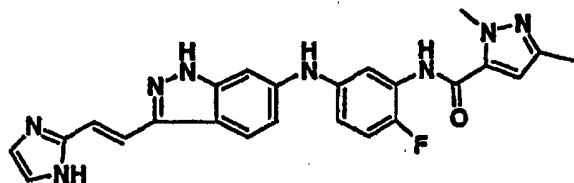
Příklad 49(g)



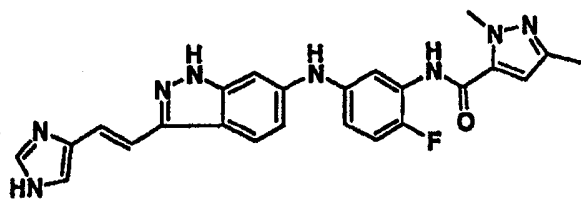
Příklad 49(h)



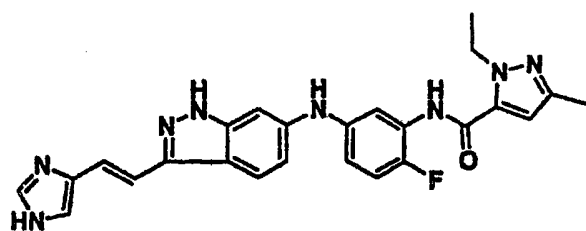
Příklad 49(i)



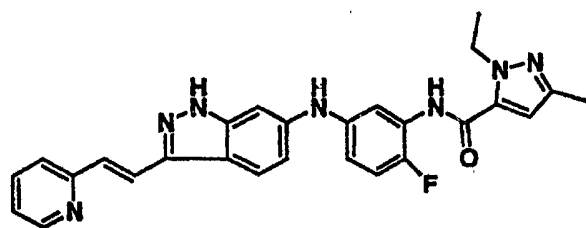
Příklad 49(j)



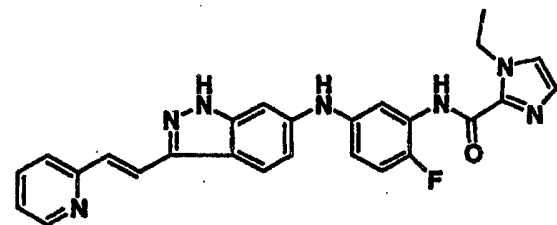
Příklad 49(k)



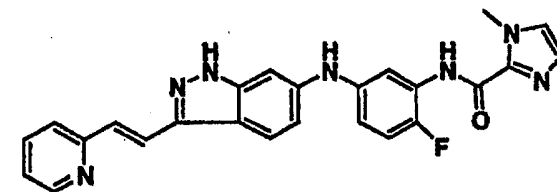
Příklad 49(l)



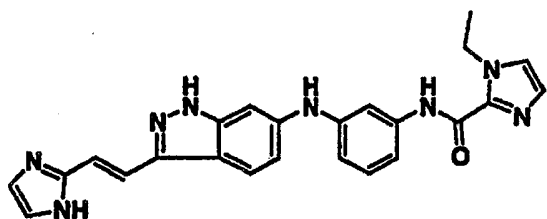
Příklad 49(m)



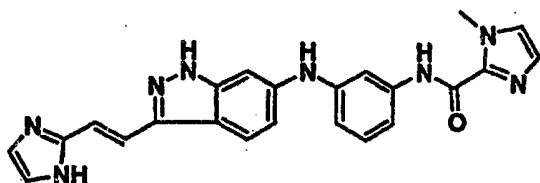
Příklad 49(n)



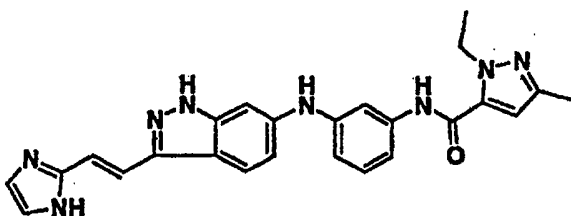
Příklad 49(o)



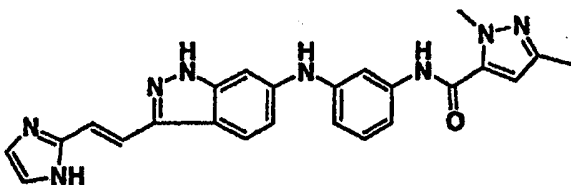
Příklad 49(p)



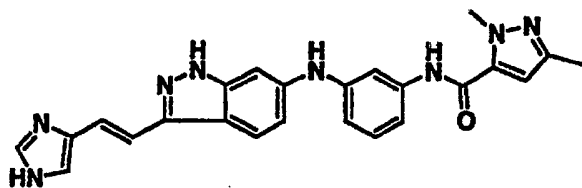
Příklad 49(q)



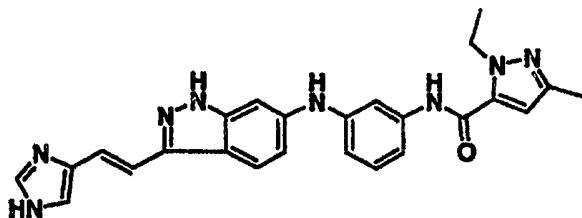
Příklad 49(r)



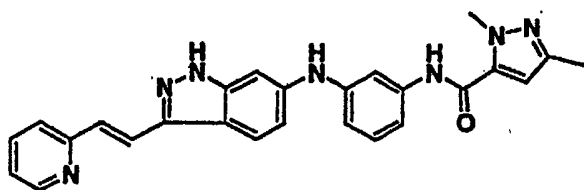
Příklad 49(s)



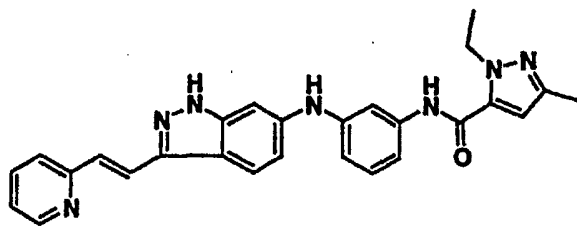
Příklad 49(t)



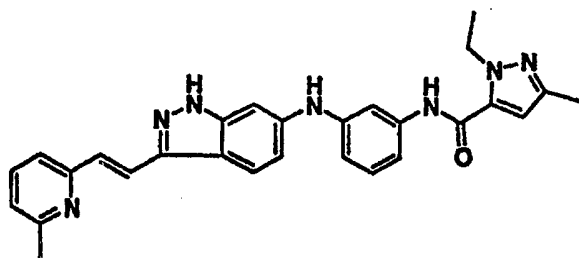
Příklad 49(u)



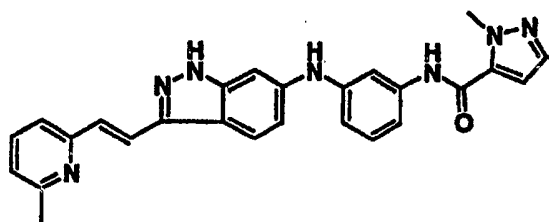
Příklad 49(v)



Příklad 49(w)

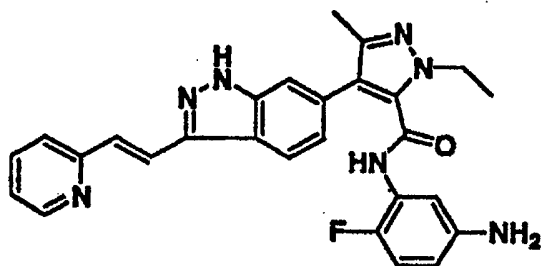


Příklad 49(x)



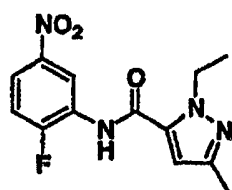
Příklad 50

6-[3-(5-amino-2-fluorfenyl) karbamoyl-5-methyl-2-ethyl-2H-pyrazol-4-yl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol



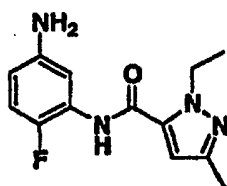
Sloučenina z příkladu 50 byla připravena z výchozí látky popsané níže podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 11. MS (ESI+) $[M+H]^+/z$ vypočteno 482, změřeno 482. Vypočteno: C, 67,35, H, 5,02, N, 20,36. Změřeno: C, 66,70, H, 5,09, N, 19,95.

(i)



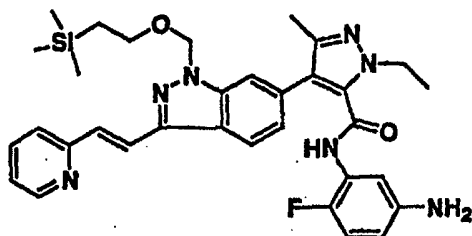
(2-fluor-5-nitrofenyl)amid 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny byl připraven podobným způsobem, jako v příkladu 47, krok (i), kromě toho, že 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylová kyselina a HATU byly použity namísto benzoylchloridu. MS (ESI+) $[M+H]^+/z$ vypočteno 293, změřeno 293.

(ii)



(2-fluor-5-nitrofenyl)amid 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny byl připraven podobným způsobem, jako v příkladu 40(b), krok (i). MS (ESI+) $[M+H]^+/z$ vypočteno 263, změřeno 263.

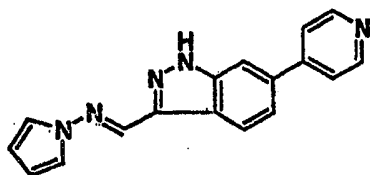
(iii)



6-[3-(5-amino-2-fluorfenyl)karbamoyl-5-methyl-2-ethyl-2H-pyrazol-4-yl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol byl připraven podobným způsobem, jako v příkladu 48(a), krok (iii), kromě toho, že (5-amino-2-fluorfenyl)amid 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny byl použit jako výchozí látka. MS (ESI+) [M+H]/z vypočteno 612, změřeno 612.

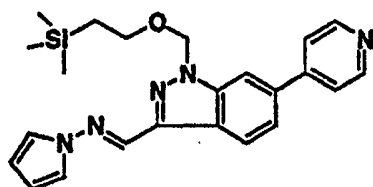
Příklad 51

6-pyrid-4-yl-3-E-(N-(pyrol-1-yl)iminomethyl)-1H-indazol



6-pyrid-4-yl-3-E-(N-(pyrol-1-yl)iminomethyl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol byl konvertován na 6-pyrid-4-yl-3-E-(N-(pyrol-1-yl)iminomethyl)-1H-indazol podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 29(a). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,76 (s, 1H), 8,67 (d, 2H, $J = 6,1$ Hz), 8,53 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,74 (s, 1H), 7,61 (d, 2H, $J = 6,2$ Hz), 7,54 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,27-7,25 (m, 2H), 6,31-6,29 (m, 2H). MS (ES) [M+H]/z vypočteno 288, změřeno 288. Anal. výpočet: C (71,07), H (4,56), N (24,37). Změřeno: C (70,81), H (4,57), N (24,14).

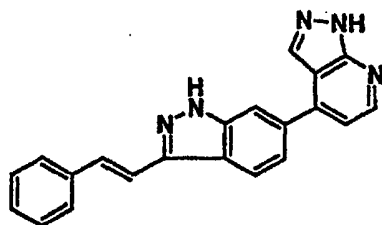
Výchozí látka byla připravena takto:



Roztok 208 mg (0,59 mmol) 6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehydu, 145 mg (1,76 mmol) N-aminopyrolu a 5,8 μ l octové kyseliny v 1 ml ethanolu byl udržován v 95 °C po dobu 16 hodin. Roztok pak byl evaporován při sníženém tlaku a purifikován chromatografií na silikagelu za vzniku 140 mg (57 %) 6-pyrid-4-yl-3-E-(N-(pyrol-1-yl)iminomethyl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu jako oleje. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9,08 (s, 1H), 8,71 (d, 2H, $J = 6,1$ Hz), 8,46 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 8,34 (s, 1H), 7,85 (d, 2H, $J = 6,2$ Hz), 7,80 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,56 (t, 2H, $J = 2,3$ Hz), 6,25 (t, 2H, $J = 2,3$ Hz), 5,93 (s, 1H), 5,74 (s, 2H), 3,64 (t, 2H, $J = 7,9$ Hz), 0,86 (t, 2H, $J = 7,9$ Hz), 0,00 (s, 9H).

Příklad 52(a)

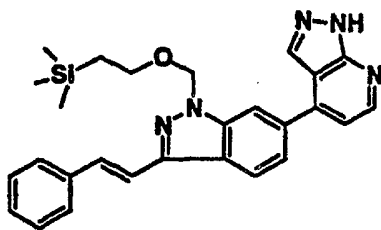
6-(7-azaindazol-4-yl)-3-E-styryl-1H-indazol



SEM-sloučenina z příkladu 52(a) byla konvertována na sloučeninu z příkladu 52(a) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 27(a). ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,63 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz), 8,41 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 8,37 (s, 1H), 7,99 (s, 1H), 7,76 (d, 2H, $J = 7,3$ Hz), 7,70 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,60-7,85 (m, 6H). HRMS (FAB) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 338,1400, změřeno 338,1389. Analyzováno s 1,1 trifluoroctovou kyselinou, vypočteno: C (60,21), H (3,51), N (15,13). Změřeno: C (59,93), H (3,59), N (14,86).

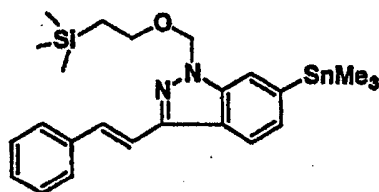
Výchozí látka byla připravena takto:

(i)



Roztok 1,0 g (1,90 mmol) 3-styryl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-6-trimethylstannyl-1H-indazolu, 0,56 g (1,90 mmol) 1-(4-jodpyrazolo[3,4-b]pyridin-1-yl)ethanonu, 116 mg (0,38 mmol) AsPh_3 a 87 mg (0,09 mmol) Pd_2dba_3 v 10 ml odplyněného dioxanu byl zahříván ve 110 °C po dobu 3 hodin. Roztok pak byl naředěn 50 ml ethylacetátu, promyt 2 x 10 ml solanky, usušen nad MgSO_4 a koncentrován při sníženém tlaku. Purifikace chromatografií na silikagelu poskytla 412 mg (46 %) sloučeniny z příkladu 52(a) jako bílé pevné látky. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,82 (d, 1H, $J = 5,8$ Hz), 8,52 (s, 1H), 8,29 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz), 8,05 (s, 1H), 7,73-7,32 (m, 10H), 5,86 (s, 2H), 3,69 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), 0,97 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), -0,03 (s, 9H).

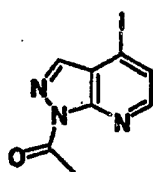
(ii)



Roztok 2,90 g (6,10 mmol) 6-jod-3-styryl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu, 2,00 g (6,12 mmol) hexamethyldicínu a 282 mg (0,24 mmol) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ v 10 ml odplyněného dioxanu byl zahříván ve 110 °C po dobu 3 hodin. Roztok pak byl naředěn 200 ml ethylacetátu, promyt 2 x 20 ml solanky, usušen nad MgSO_4 a evaporován při sníženém tlaku. Purifikace

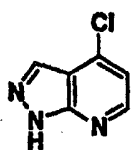
chromatografií na silikagelu poskytla 3 g (96 %) 3-styryl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-6-trimethylstannyl-1H-indazolu jako žlutého oleje. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,02 (d, 1H, $J = 7,4$ Hz), 7,71 (s, 1H), 7,71-7,29 (m, 8H), 5,77 (s, 2H), 3,65 (t, 2H, $J = 16,3$ Hz), 0,95 (t, 2H, $J = 16,4$ Hz), 0,38 (s, 9H), -0,03 (s, 9H).

(iii)



Směs 820 mg (5,30 mmol) 4-chlor-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridinu, 2,4 mg (16,0 mmol) jodidu sodného a 0,8 ml acetylchloridu v 6 ml acetonitrilu byla zahřívána k varu pod zpětným chladičem 8 hodin. Směs pak byla podrobena působení 10 ml 10% vodného roztoku NaCO_3 a 10 ml 10% vodného roztoku NaHSO_3 a udržována 10 minut. Směs byla extrahována 50 ml ethylacetátu a organické vrstvy byly promyty 10 ml solanky, usušeny nad MgSO_4 a evaporovány při sníženém tlaku. Purifikace chromatografií na silikagelu poskytla 650 mg (42 %) 1-(4-jodpyrazolo[3,4-b]pyridin-1-yl)ethanonu jako hnědé pevné látky. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,39 (d, 1H, $J = 5,0$ Hz), 8,04 (s, 1H), 7,76 (d, 1H, $J = 5,0$ Hz), 2,88 (s, 3H).

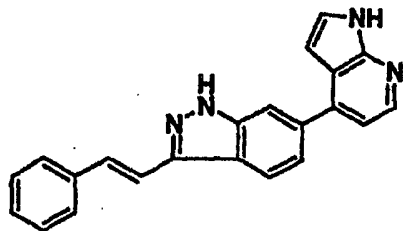
(iv)



1,2 g (8,8 mmol) 1,7-dihydropyrazolo[3,4-b]pyridin-4-onu, (Dorn, H. Et al., Prakt. Chem., 324, 557-62, 1982) v 15 ml POCl_3 při teplotě 0°C bylo podrobeno působení 2,5 mg (0,01 mmol) PCl_5 . Roztok byl ponechán ohřát se na teplotu místnosti po dobu 1 hodiny, pak byl zahříván na 90°C a udržován 3 hodiny. Roztok byl koncentrován při sníženém tlaku, pak podroben působení 50 ml ledu a vody. Výsledná směs byla extrahována 100 ml ethylacetátu a organická vrstva byla promyta 30 ml saturevaného vodného roztoku hydrouhličitanu sodného. Organická vrstva byla usušena nad MgSO_4 , pak evaporována při sníženém tlaku za vzniku 820 mg (60 %) 4-chlor-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridinu jako žluté pevné látky. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,57 (d, 1H, $J = 5,2$ Hz), 8,25 (s, 1H), 7,28 (d, 1H, $J = 5,2$ Hz).

Příklad 52(b)

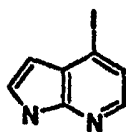
6-(7-azaindol-4-yl)-3-E-styryl-1H-indazol



SEM-jodindazol byl konvertován na sloučeninu z příkladu 52(b) podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 27(a). ^1H NMR (300 MHz, MeOH-d_4) δ 8,40 (d, 1H, $J = 5,3$ Hz), 8,53 (d, 1H, $J = 6$ Hz), 7,74-7,35 (m, 10H), 6,90 (s, 1H). HRMS (FAB) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 337,1448, změřeno 337,1457. Analyzováno s $0,3 \text{ H}_2\text{O}$, vypočteno: C (77,31), H (4,90), N (16,39). Změřeno: C (77,51), H (4,88), N (16,27).

Výchozí látka byla připravena takto:

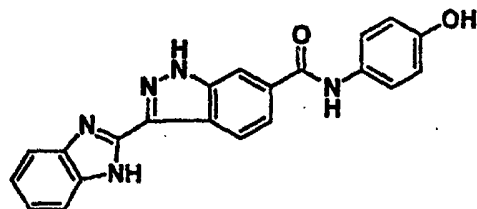
(i)



4-chlor-1H-pyrolo[2,3-b]pyridin (Clark, B. A. Et al., J. Chem. Soc. P1, 2270-74, 1974) byl konvertován na 4-jod-1H-pyrolo[2,3-b]pyridin podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 52(a). ^1H NMR (300 MHz, MeOH-d_4) δ 8,10 (m, 1H), 7,89 (d, 1H, $J = 5,0$ Hz), 7,58 (m, 1H), 7,50 (d, 1H, $J = 5,0$ Hz), 6,26 (š s, 1H).

Příklad 53(a)

3-(1H-benzimidazol-2-yl)-N-(4-hydroxyfenyl)-1H-indazol-6-karboxamid

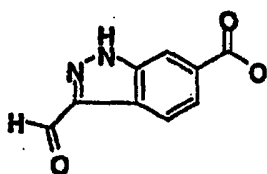


K roztoku 208 mg (0,7 mmol) 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1H-indazol-6-karboxylové kyseliny v 6 ml suchého dimethylformamidu bylo přidáno 82 mg (0,7 mmol) 4-aminofenolu, následováno 312 mg (0,8 mmol) HATU, a pak bylo přidáno 20 kapek triethylaminu. Reakce byla míchána přes noc při teplotě místnosti. LC/MS prokázala požadovaný produkt jako hlavní složku. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu. Zbylý zbytek byl nabrán do vody a ethylacetátu. Vrstvy byly odděleny a organická vrstva byla koncentrována ve vakuu. Zbytek byl rozpuštěn v 10 ml methanolu a polovina tohoto roztoku byla purifikována HPLC s použitím gradientu 5% acetonitril/voda až 55% acetonitril/voda po dobu 60 minut s 0,1% trifluoroctovou

kyselinou ve vodě. Sloučenina uvedená v názvu byla izolována jako 20 mg pevné látky. ^1H NMR (methanol- d_4) δ 6,87 (2H, d, 8,8 Hz), 7,55 (2H, d, 8,7 Hz), 7,61 (2H, m), 7,87 (2H, br s), 8,00 (1H, d, 8,4 Hz), 8,35 (1H, s), 8,52 (1H, d, 8,6 Hz). MS (APCI poz) 370,1.

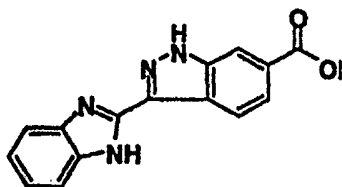
Výchozí látka byla připravena takto:

(i)



K 2,0 g (12,42 mmol) 1H-indol-6-karboxylové kyseliny ve 100 ml vody bylo přidáno 8,56 g (124,2 mmol) NaNO_2 . K této suspenzi pak bylo pomalu po kapkách přidáváno adiční nálevkou 16 ml 6N HCl. Výsledná suspenze byla ponechána za míchání při teplotě místnosti přes noc. Pevný precipitát byl filtrován a promyt 50 ml vody za vzniku 2,35 g (100 %) 3-formyl-1H-indazol-6-karboxylové kyseliny. ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) δ 14,46 (1H, s), 10,21 (1H, s), 8,26 (1H, s), 8,20 (1H, d, $J = 8,5$ Hz), 7,90 (1H, d, $J = 8,3$ Hz). MS (APCI pozitivní) 205 (methylester).

(ii)

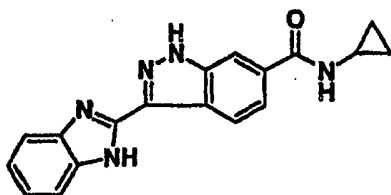


K 2,35 g (12,42 mmol) 3-formyl-1H-indazol-6-karboxylové kyseliny v 60 ml DMF bylo přidáno 1,34 g (12,42 mmol) 1,2-fenylendiaminu a 13,66 mmol (1,1 ekv.) práškové síry. Tato směs pak byla zahřívána k varu pod zpětným chladičem po dobu 6

hodin. Reakce byla sledována TLC a LC-MS. Po ochlazení bylo přidáno 50 ml vody do reakce a hnědý precipitát, který byl vytvořen, byl filtrován a sbírán za vzniku 3,1 g (90 %) 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1H-indazol-6-karboxylové kyseliny. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 14,01 (1H, s), 8,58 (1H, d, $J = 8,5$ Hz), 8,24 (1H, s), 7,87 (1H, d, $J = 8,7$ Hz), 7,64 (2H, m), 7,25 (2H, m). MS (APCI pozitivní) 279.

Příklad 53(b)

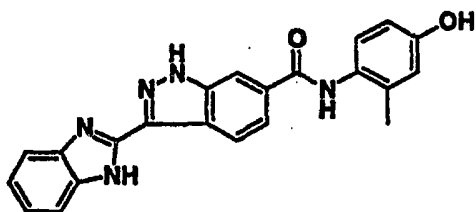
3-(1H-benzimidazol-2-yl)-N-cyklopropyl-1H-indazol-6-karboxamid



Ke 200 mg (0,719 mmol) 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1H-indazol-6-karboxylové kyseliny ve 30 ml DMF bylo přidáno 98 mg (0,719 mmol) cyklopropylaminu, 273 mg (0,719 mmol) HATU a 0,1 ml (0,726 mmol) triethylaminu. Tento roztok byl ponechán za míchání při teplotě místnosti přes noc. Reakce byla zpracována promytím vodou a extrakcí 3 x 50 ml ethylacetátu. Organická vrstva pak byla usušena nad MgSO_4 , filtrována a koncentrována za vzniku tmavého oleje. Velmi rychlá chromatografie na koloně (30-70% ethylacetát/petrolether) poskytla 0,130 g (57 %) 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-N-cyklopropyl-1H-indazol-6-karbox-amidu jako žluté pevné látky. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,88 (1H, s), 8,63 (1H, m), 8,51 (1H, d, $J = 8,5$ Hz), 8,09 (1H, s), 7,75 (1H, d, $J = 8,7$ Hz), 7,63 (2H, br s), 7,21 (2H, m), 2,89 (1H, m), 0,72 (2H, m), 0,63 (2H, m). MS (APCI pozitivní) 318,1.

Příklad 53(c)

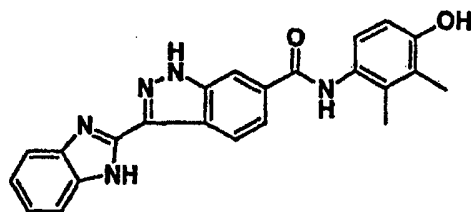
3-(1H-benzimidazol-2-yl)-N-(4-hydroxy-3-methylfenyl)-1H-indazol-6-karboxamid



Sloučenina z příkladu 53(c) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 53(a), kromě toho, že 3-methyl-4-aminofenol byl použit namísto 4-aminofenolu. ^1H NMR, (DMSO- d_6) δ 8,59 (1H, d, J = 8,3 Hz), 8,25 (1H, s), 7,89 (1H, dd, J = 1,3, 8,5 Hz), 7,68 (2H, br s), 7,28 (2H, m), 7,14 (1H, d, J = 8,5 Hz), 6,74 (1H, s), 6,68 (2H, dd, J = 3,0, 8,3 Hz). MS (APCI pozitivní) 384,1.

Příklad 53(d)

3-(1H-benzimidazol-2-yl)-N-(4-hydroxy-2,3-dimethylfenyl)-1H-indazol-6-karboxamid

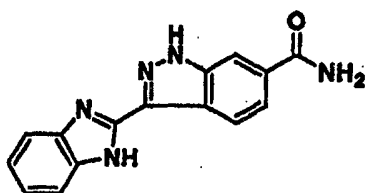


Sloučenina z příkladu 53(d) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 53(a) kromě toho, že 2,3-dimethyl-4-aminofenol byl použit namísto 4-aminofenolu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 9,93 (1H, s), 9,22 (1H, s), 8,56 (1H, d, J = 5,5 Hz), 8,25 (1H, s), 7,90 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,73 (1H, br s), 7,53 (1H, br s), 7,23 (2H, br s), 6,92 (1H, d, J = 8,3

Hz), 6,68 (1H, d, $J = 8,5$ Hz), 2,09 (6H, br s). MS (APCI pozitivní) 398,4.

Příklad 53(e)

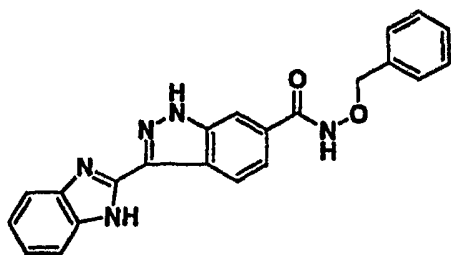
3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1H-indazol-6-karboxamid



Sloučenina z příkladu 53(e) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 53(a) kromě toho, že 1,1,1,3,3,3-hexamethyldisilazan byl použit namísto 4-aminofenolu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,91 (1H, s), 13,04 (1H, s), 8,52 (1H, d, $J = 8,3$ Hz), 8,20 (1H, br s), 8,15 (1H, s), 7,81 (1H, d, $J = 7,7$ Hz), 7,75 (1H, d, $J = 6,6$ Hz), 7,51 (2H, m), 7,21 (2H, m). MS (APCI pozitivní) 278,1.

Příklad 53(f)

3-(1H-benzimidazol-2-yl)-N-benzyloxy-1H-indazol-6-karboxamid

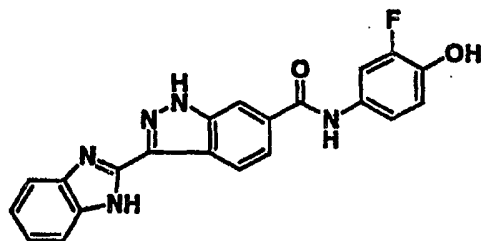


Sloučenina z příkladu 53(f) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 53(a) kromě toho, že O-benzylhydroxylamin byl použit namísto 4-aminofenolu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,94 (1H, s), 13,06 (1H, s), 11,97 (1H, s), 8,55 (1H, d, $J = 8,8$ Hz), 8,02 (1H, s), 7,78 (1H, d, $J = 8,3$ Hz),

7,52 (1H, d, $J = 8,3$ Hz), 7,50 (3H, m), 7,40 (3H, m), 7,22 (2H, m), 4,97 (2H, s). MS (APCI pozitivní) 384,2.

Příklad 53(g)

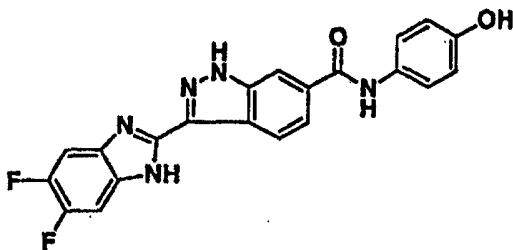
3-(1H-benzimidazol-2-yl)-N-(3-fluor-4-hydroxyfenyl)-1H-indazol-6-karboxamid



Sloučenina z příkladu 53(g) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 53(a) kromě toho, že 3-fluor-4-aminofenol byl použit namísto 4-aminofenolu. ^1H NMR (CH_3OD) δ 8,58 (1H, d, $J = 8,5$ Hz), 8,20 (1H, s), 7,84 (1H, d, $J = 8,7$ Hz), 7,68 (2H, br s), 7,63 (1H, dd, $J = 2,4, 13$ Hz), 7,29 (3H, m), 6,92 (1H, t, $J = 9,2$ Hz). MS (APCI pozitivní) 388,3.

Příklad 54(a)

3-(5,6-difluor-1H-benzimidazol-2-yl)-N-(4-hydroxyfenyl)-1H-indazol-6-karboxamid

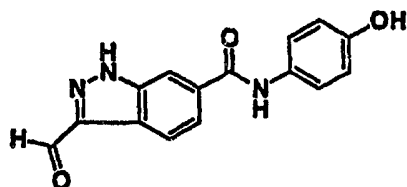


S použitím stejného postupu jako pro syntézu 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1H-indazol-6-karboxylové kyseliny v příkladu 53(a), krok (ii), N-(4-hydroxyfenyl)-3-formyl-1H-

indazol-6-karboxamid a 4,5-difluor-1,2-fenylendiamin poskytly 3-(5,6-difluor-1H-benzimidazol-2-yl)-N-(4-hydroxyfenyl)-1H-indazol-6-karboxamid jako žlutohnědou pevnou látku. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,99 (1H, s), 13,27 (1H, s), 10,21 (1H, s), 9,25 (1H, s), 8,52 (1H, d, $J = 8,7$ Hz), 8,21 (1H, s), 7,85 (1H, d, $J = 9,0$ Hz), 7,80 (1H, t, $J = 9,8$ Hz), 7,55 (2H, d, $J = 8,7$ Hz), 7,47 (1H, t, $J = 9,8$ Hz), 6,75 (2H, d, $J = 8,7$ Hz). MS (APCI pozitivní) 406.

Výchozí látka byla připravena takto:

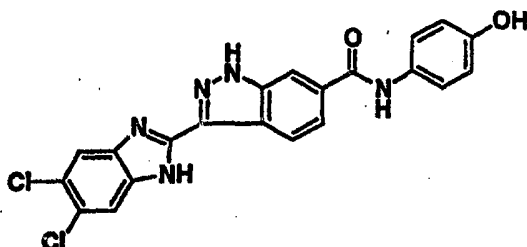
(i)



K roztoku 1,6 g (8,4 mmol) 3-formyl-1H-indazol-6-karboxylové kyseliny a 1,8 g (16,8 mmol) 4-aminofenolu v 35 ml suchého dimethylformamidu bylo přidáno 3,8 g (16,8 mmol) HATU následováno 1,4 ml (10,1 mmol) triethylaminu. Reakce byla míchána při teplotě místnosti a monitorována TLC a LC/MS. Po dvou hodinách byla reakce kompletní. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a produkt byl purifikován velmi rychlou chromatografií na koloně s použitím směsi ethylacetátu a petroletheru 1:1 až čistého ethylacetátu. N-(4-hydroxyfenyl)-3-formyl-1H-indazol-6-karboxamid byl izolován jako žlutohnědě zbarvená pevná látka. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 6,79 (2H, d, 8,9 Hz), 7,59 (2H, d, 8,9 Hz), 7,94 (1H, d, 9,8 Hz), 8,24 (1H, d, 8,2 Hz), 8,31 (1H, s), 9,31 (2H, br s), 10,27 (2H, s). MS (APCI poz) 282,1.

Příklad 54(b)

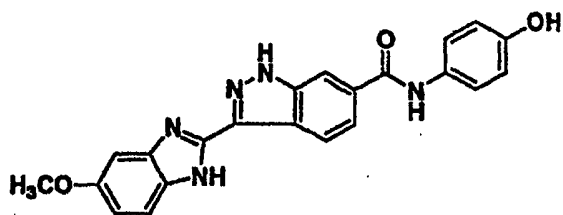
3-(5,6-dichlor-1H-benzimidazol-2-yl)-N-(4-hydroxyfenyl)-1H-indazol-6-karboxamid



Sloučenina z příkladu 54(b) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 54(a) kromě toho, že 4,5-dichlor-1,2-fenylendiamin byl použit namísto 4,5-difluor-1,2-fenylendiaminu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 14,08 (1H, s), 13,38 (1H, s), 10,22 (1H, s), 9,27 (1H, s), 8,52 (1H, d, $J = 8,7$ Hz), 8,23 (1H, s), 8,02 (1H, s), 7,86 (1H, d, $J = 8,7$ Hz), 7,70 (1H, s), 7,55 (2H, d, $J = 8,7$ Hz), 6,75 (2H, d, $J = 8,7$ Hz). MS (APCI pozitivní) 438.

Příklad 54(c)

3-(5-methoxy-1H-benzimidazol-2-yl)-N-(4-hydroxyfenyl)-1H-indazol-6-karboxamid

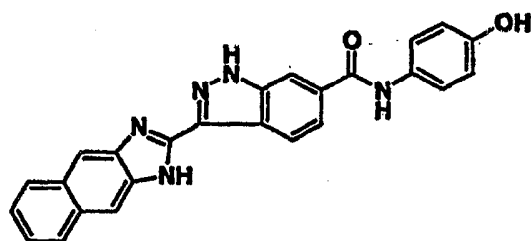


Sloučenina z příkladu 54(c) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 54(a) kromě toho, že 4-methoxy-1,2-fenylendiamin byl použit namísto 4,5-difluor-1,2-fenylendiaminu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,76 (1H, s), 12,77 (1H, s), 10,13 (1H, s), 9,17 (1H, s), 8,45 (1H, d, $J = 8,3$ Hz), 8,11 (1H, s), 7,75 (1H, d, $J = 8,6$ Hz), 7,46 (2H, d, $J = 8,7$

Hz), 7,32 (1H, d, $J = 8,3$ Hz), 6,91. (1H, s), 6,77 (1H, m), 6,67 (2H, d, $J = 8,7$ Hz), 3,72 (3H, s). MS (APCI pozitivní) 400.

Příklad 54(d)

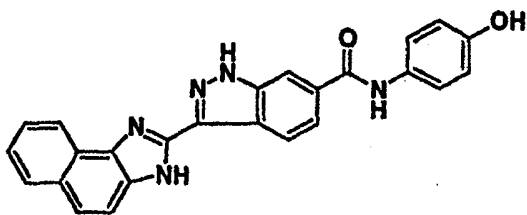
3-[1H-nafto(2,3-d)imidazol-2-yl]-N-(4-hydroxyfenyl)-1H-indazol-6-karboxamid



Sloučenina z příkladu 54(d) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 54(a) kromě toho, že 2,3-naftalendiamin byl použit namísto 4,5-difluor-1,2-fenylendiaminu. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 14,11 (1H, s), 13,10 (1H, s), 10,24 (1H, s), 9,27 (1H, s), 8,64 (1H, d, $J = 8,7$ Hz), 8,28 (1H, s), 8,25 (1H, s), 7,97 (2H, m), 7,73 (1H, br s), 7,89 (1H, d, $J = 8,6$ Hz), 7,56 (2H, d, $J = 8,7$ Hz), 7,38 (2H, b), 6,76 (2H, d, $J = 8,7$ Hz). MS (APCI pozitivní) 420.

Příklad 54(e)

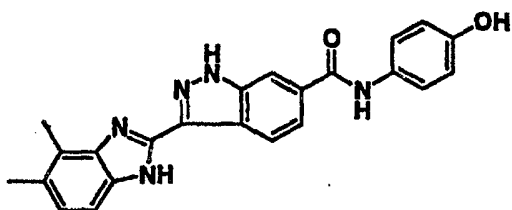
3-[1H-nafto(1,2-d)imidazol-2-yl]-N-(4-hydroxyfenyl)-1H-indazol-6-karboxamid



Sloučenina z příkladu 54(e) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 54(a) kromě toho, že 1,2-naftalendiamin byl použit namísto 4,5-difluor-1,2-fenylendiaminu. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 13,93 (1H, s), 13,38 (1H, s), 10,23 (1H, s), 9,27 (1H, s), 8,70 (2H, m), 8,22 (1H, s), 8,00 (1H, d, $J = 8,0$ Hz), 7,87 (1H, m), 7,72 (3H, m), 7,57 (2H, d, $J = 8,7$ Hz), 6,76 (2H, d, $J = 8,6$ Hz): MS (APCI pozitivní) 420.

Příklad 54(f)

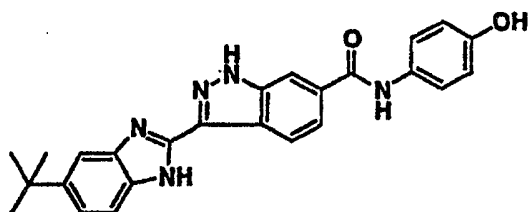
3-(4,5-dimethyl-1H-benzimidazol-2-yl)-N-(4-hydroxyfenyl)-1H-indazol-6-karboxamid



Sloučenina z příkladu 54(f) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 54(a) kromě toho, že 3,4-dimethyl-1,2-fenylendiamin byl použit namísto 4,5-difluor-1,2-fenylendiaminu. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 13,77 (1H, d, tautomery), 12,70 (1H, d, tautomery), 10,11 (1H, s), 9,16 (1H, s), 8,48 (1H, d, $J = 8,3$ Hz), 8,09 (1H, s), 7,73 (1H, d, $J = 8,6$ Hz), 7,47 (2H, d, $J = 8,7$ Hz), 7,10 (1H, d, $J = 8,3$ Hz), 6,93 (1H, d, $J = 8,3$ Hz), 6,65 (2H, d, $J = 8,7$ Hz), 2,49 (3H, s), 2,24 (3H, s). MS (APQ pozitivní) 398,4.

Příklad 54(g)

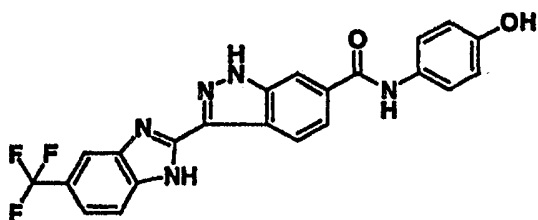
3-(5-terc-butyl-1H-benzimidazol-2-yl)-N-(4-hydroxyfenyl)-1H-indazol-6-karboxamid



Sloučenina z příkladu 54(g) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 54(a) kromě toho, že 4-terc-butyl-1,2-fenylendiamin byl použit namísto 4,5-difluor-1,2-fenylendiaminu. ^1H NMR (aceton- d_6) δ 12,88 (1H, s), 9,47 (1H, s), 8,63 (1H, d, $J = 8,7$ Hz), 8,18 (1H, s), 7,82 (1H, d, $J = 8,3$ Hz), 7,57 (4H, m), 7,26 (1H, d, $J = 8,4$ Hz), 6,74 (1H, d, $J = 8,3$ Hz), 1,31 (9H, s). MS (APCI pozitivní) 426.

Příklad 54(h)

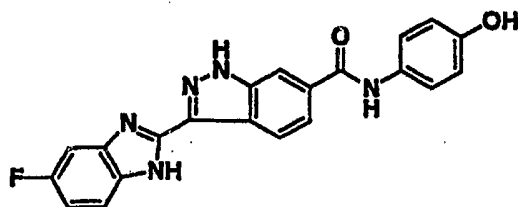
3-(5-trifluormethyl-1H-benzimidazol-2-yl)-N-(4-hydroxyfenyl)-1H-indazol-6-karboxamid



Sloučenina z příkladu 54(h) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 54(a) kromě toho, že 4-trifluormethyl-1,2-fenylendiamin byl použit namísto 4,5-difluor-1,2-fenylendiaminu. ^1H NMR (methanol- d_4) δ 6,86 (2H, d, 8,9 Hz), 7,54 (2H, d, 8,9 Hz), 7,6 (1H, dd, 8,5 Hz), 7,83 (1H, d, 8,3 Hz), 7,89 (1H, dd, 8,6 Hz), 8,04 (1H, br s), 8,25 (1H, s), 8,61 (1H, d, 8,6 Hz). MS (APCI poz) 438,1.

Příklad 54(i)

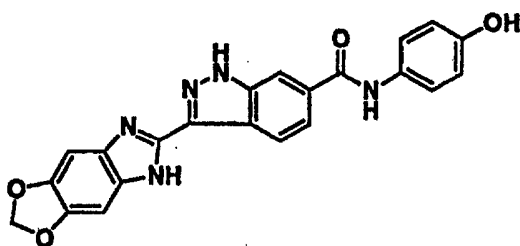
3-(5-fluor-1H-benzimidazol-2-yl)-N-(4-hydroxyfenyl)-1H-indazol-6-karboxamid



Sloučenina z příkladu 54(i) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 54(a) kromě toho, že 4-fluor-1,2-fenylendiamin byl použit namísto 4,5-difluor-1,2-fenylendiaminu. ^1H NMR (aceton- d_6) δ 13,40 (1H, b), 12,47 (1H, b), 9,74 (1H, s), 8,67 (1H, d, $J = 8,6$ Hz), 8,66 (1H, s), 8,29 (1H, s), 7,94 (1H, d, $J = 8,5$ Hz), 7,67 (2H, $J = 8,4$ Hz), 7,64 (1H, m), 7,40 (1H, m), 7,05 (1H, t, $J = 8,5$ Hz), 6,83 (2H, d, $J = 8,4$ Hz). MS (APCI poz) 388.

Příklad 54(j)

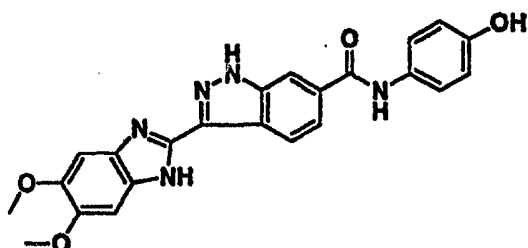
3-(5H-[1,3]dioxolo[4,5-f]benzimidazol-6-yl)-N-(4-hydroxyfenyl)-1H-indazol-6-karboxamid



Sloučenina z příkladu 54(j) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 54(a) kromě toho, že 4,5-methylenedioxy-1,2-fenylendiamin byl použit namísto 4,5-difluor-1,2-fenylendiaminu. ^1H NMR (methanol- d_4) δ 6,85 (2H, d, 8,9 Hz), 7,15 (2H, s), 7,54 (2H, d, 8,9 Hz), 7,86 (1H, dd, 8,6 Hz), 8,23 (1H, s), 8,55 (1H, dd, 8,5 Hz). MS (APCI poz) 414,1.

Příklad 54(k)

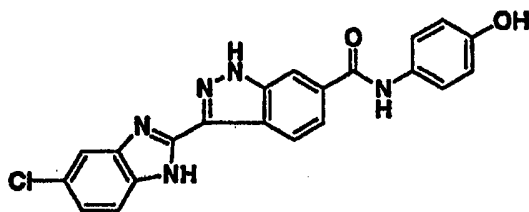
3-(5,6-dimethoxy-1H-benzimidazol-2-yl)-N-(4-hydroxyfenyl)-1H-indazol-6-karboxamid



Sloučenina z příkladu 54(k) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 54(a) kromě toho, že 4,5-dimethoxy-1,2-fenylendiamin byl použit namísto 4,5-difluor-1,2-fenylendiaminu. ^1H NMR (methanol- d_4) δ 3,98 (6H, s), 6,85 (2H, d, 8,78 Hz), 7,29 (2H, br s), 7,54 (2H, d, 8,73 Hz), 7,86 (1H, d, 8,57 Hz), 8,24 (1H, s), 8,57 (1H, d, 8,58 Hz). MS (APCI poz) 430,1.

Příklad 54(l)

3-(5-chlor-1H-benzimidazol-2-yl)-N-(4-hydroxyfenyl)-1H-indazol-6-karboxamid

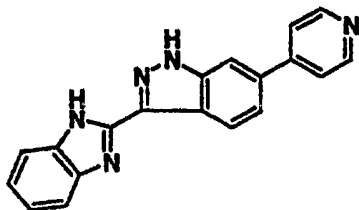


Sloučenina z příkladu 54(l) byla připravena podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 54(a) kromě toho, že 4-chlor-1,2-fenylendiamin byl použit namísto 4,5-difluor-1,2-fenylendiaminu. ^1H NMR (methanol- d_4) δ 8,62 (1H, d, $J = 8,6$ Hz), 8,30 (1H, s), 7,90 (1H, dd, $J_1 = 8,6$ Hz, $J_2 = 1,3$ Hz), 7,69 (b, 2H), 7,56 (2H, d, $J = 6,89$ Hz), 7,33 (1H, dd, $J_1 =$

8,59, $J_2 = 1,97$ Hz), 6,88 (2H, d, $J = 6,89$ Hz). MS (APCI poz) 404,1.

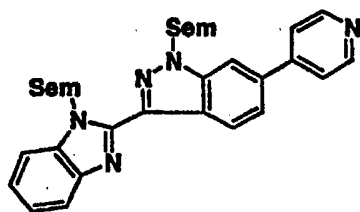
Příklad 55

3-1H-benzimidazol-2-yl-6-pyridin-4-yl-1H-indazol



SEM-sloučenina z příkladu 55 byla konvertována na sloučeninu z příkladu 55 podobným způsobem, jak bylo popsáno v příkladu 27(a). ^1H NMR (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{MeOH-d}_4 + \text{DMSO-d}_6$) δ 8,71-8,64 (m, 3H), 8,03 (s, 1H), 7,86 (dd, 2H, $J = 4,7, 1,6$ Hz), 7,77-7,72 (m, 3H), 7,32 (dd, 2H, $J = 6,0, 3,1$ Hz). HRMS (FAB) $[\text{M}+\text{H}]/z$ vypočteno 312,1244, změřeno 312,1253. Analyzováno s 1,40 H_2O , vypočteno: C (67,80), H (4,73), N (20,81). Změřeno: C (68,06), H (4,45), N (20,68).

Výchozí látka byla připravena takto:

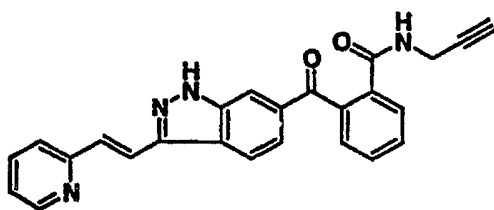


Roztok 0,70 g (2,0 mmol) 6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethoxysilylethoxymethyl)-1H-indazol-3-karbaldehydu, 0,26 g (2,4 mmol) benzen-1,2-diaminu a 77 mg (2,4 mmol) síry v 10 ml DMF byl zahříván v olejové lázni v 90 °C přes noc. Výsledná směs byla nalita do 200 ml solanky, a pak extrahována 3 x 60 ml EtOAc. Spojené organické vrstvy byly usušeny nad MgSO_4 a koncentrovány při sníženém tlaku. Výsledný olej byl

purifikován chromatografií na silikagelu za vzniku 0,75 g (65 %) 6-pyridin-4-yl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-3-[1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-benzimidazol-2-yl]-1H-indazolu jako světle hnědého oleje. ^1H NMR(CDCl_3) δ 8,82 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 8,73 (d, 1H, $J = 5,8$ Hz), 7,94-7,89 (m, 2H), 7,87 (s, 1H), 7,69-7,62 (m, 4H), 7,40-7,34 (m, 2H), 3,70-3,49 (m, 4H), 0,94 (t, 2H, $J = 8,3$ Hz), 0,67 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), -0,03 (s, 9H), -0,13 (s, 9H).

Příklad 56

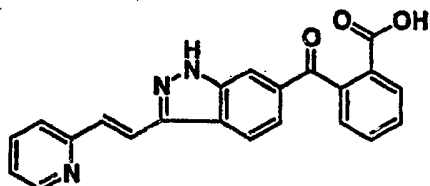
6-[3-(propyn-3-ylkarbamoyl)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazol



Roztok 55,4 mg (0,15 mmol, syntéza popsaná níže) 2-{1-[3-((E)-2-pyridin-2-ylvinyl)-1H-indazol-6-yl]methanoyl}benzoové kyseliny, 15,4 μl (0,225 mmol) propargylaminu a 41,8 μl (0,30 mmol) triethylaminu, rozpuštěný v 1,5 ml DMF, byl podroben působení 62,7 mg (0,165 mmol) O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluroniumhexafluorofosfátu. Po míchání po dobu jedné hodiny byla směs koncentrována za vysokého vakua a purifikována preparativní chromatografií s převráceným poměrem fází na koloně C18. Výsledných 40 mg produktu bylo dále purifikováno chromatografií na chromatotronu s kruhovou deskou za eluce směsí 25% CH_3CN a CH_2Cl_2 , za vzniku 16,5 mg produktu jako bílé pevné látky (27% výtěžek). ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 13,30 (s, 1H), 8,58 (d, $J = 5,00$ Hz, 1H), 8,05 (d, $J = 8,29$ Hz, 1H), 7,92 (d, $J = 16,2$ Hz, 1H), 7,79 (m, 3H), 7,63 (d, $J = 8,25$ Hz, 1H), 7,53 (m, 3H), 7,32 (s, 1H), 7,27 (m, 2H), 6,89 (d, $J =$

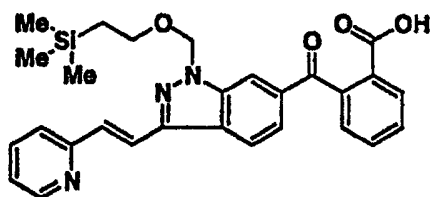
8,48 Hz, 1H). Anal. výpočet, pro $C_{25}H_{18}N_4O_2 \cdot 0,5 H_2O$: C, 72,27, H, 4,61, N, 13,49. Změřeno: C, 72,39, H, 4,62, N, 13,69.

(i)



Syntéza 2-{1-[3-((E)-2-pyridin-2-ylvinyl)-1H-indazol-6-yl]methanoyl}benzoové kyseliny. Roztok 402 mg (0,805 mmol, syntéza popsaná níže) 2-{1-[3-((E)-2-pyridin-2-ylvinyl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-6-yl]methanoyl}-benzoové kyseliny, 215 μ l (3,22 mmol) ethylendiaminu a 6,44 ml (6,44 mmol) 1M TBAF v THF byl míchán v 90 °C v olejové lázni po dobu 4 hodin. Surová reakční směs byla zastavena 386 μ l (6,44 mmol) octové kyseliny, naředěna 100 ml ethylacetátu, extrahována 2 x 20 ml 1M roztoku hydrouhličitany sodného, 5 x 20 ml solanky, usušena nad sulfátem hořečnatým, filtrována a koncentrována na objem 3 ml. Výsledná surová látka byla purifikována preparativní chromatografií s převráceným poměrem fází na koloně C18 za vzniku 211 mg sloučeniny uvedené v názvu jako žluté pevné látky (71 % výtěžek). ^1H NMR ($DMSO-d_6$) δ 13,50 (š s, 1H), 8,68 (d, J = 5,27 Hz, 1H), 8,29 (d, J = 8,86 Hz, 1H), 8,13-7,90 (m, 4H), 7,81-7,43 (m, 7H).

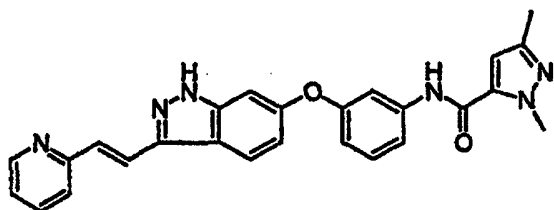
(ii)



Syntéza 2-{1-[3-((E)-2-pyridin-2-ylvinyl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-6-yl]methanoyl}benzoové kyseliny. Roztok 477 mg (1,0 mmol) 6-jodindazolu, rozpuštěno v 10 ml THF, v -100 °C byl po kapkách podroben působení 440 µl (1,10 mmol) 2,5M n-butyllithia v hexanu, mícháno po dobu 5 minuty v této teplotě, a pak byl podroben působení roztoku 222 mg (1,5 mmol) anhydridu kyseliny ftalové v 1,0 ml THF. Výsledná směs byla ponechána ohřát se pomalu na teplotu místnosti, kde byla zbavena THF, naředěna ethylacetátem, extrahována 1N kyselinou citronovou, extrahována solankou, usušena nad sulfátem hořečnatým a koncentrována na olej. Olej byl triturován methylenchloridem a diethyletherem za vzniku 484 mg (81% výtěžek) sloučeniny uvedené v názvu jako bílé pevné látky. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 8,67 (d, J = 5,09 Hz, 1H), 8,31 (d, J = 8,85 Hz, 1H), 8,08-7,55 (m, 4H), 7,50-7,37 (m, 2H), 5,81 (s, 2H), 3,53 (t, J = 8,10 Hz, 2H), 0,78 (t, J = 8,15 Hz, 2H), -0,12 (s, 9H).

Příklad 57

6-[3-((1,3-dimethyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)fenoxy]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

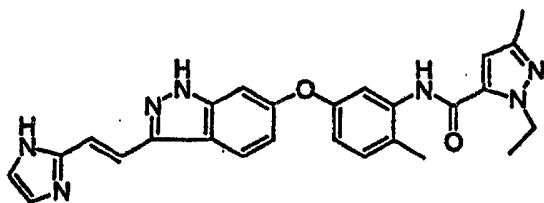


Sloučenina z příkladu 57 byla připravena podobným způsobem jako v příkladu 58. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,15 (s, 1H), 10,17 (s, 1H), 8,60 (d, 1H, J = 4,2 Hz), 8,22 (d, 1H, J = 8,7 Hz), 7,94 (d, 1H, J = 16,4 Hz), 7,84-7,79 (m, 1H), 7,68-7,50 (m, 4H), 7,40 (t, 1H, J = 8,1 Hz), 7,30-7,26 (m, 1H), 7,06 (s, 1H), 7,00 (dd, 1H, J = 8,8, 1,9 Hz), 6,87 (dd, 1H, J = 8,0,

1,9 Hz), 6,79 (s, 1H), 3,96 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), ESIMS m/z 451 $[M+H]^+$. Anal. vypočteno pro $C_{26}H_{22}N_6O_2 \times 0,5 H_2O \times 0,4 \text{ hexan}$ (494,0 g/mol): C, 69,05, H, 5,84, N, 17,01. Změřeno: C, 68,78, H, 5,55, N, 17,05.

Příklad 58

6-[3-((1-ethyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)fenoxy]-3-E-[2-(1H-imidazol-2-yl)ethenyl]-1H-indazol

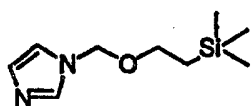


Roztok 7,5 ml (7,5 mmol, 15,0 ekv.) 1,0M tetrabutylamoniumfluoridu v THF a 0,33 ml (5,0 mmol, 10 ekv.) 1,2-diaminoethanu bylo přidáno k 360 mg (0,5 mmol, 1,0 ekv.) [2-methyl-5-(1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-3-((E)-2-[1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-imidazol-2-yl]vinyl)-1H-indazol-6-yloxy)fenyl]amidu 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny v 5 ml 1,4-dioxanu a reakční směs byla zahřívána na 90 °C po dobu 18 hodin. Na konci této doby byla reakce koncentrována při sníženém tlaku a výsledný oranžový olej byl naředěn 50 ml ethylacetátu. Organická vrstva byla důkladně promyta 5 x 50 ml saturovaného hydrouhličitane sodného, solankou, usušena nad sulfátem hořečnatým a koncentrována při sníženém tlaku za vzniku 287 mg žluté pevné látky. Surový produkt byl purifikován chromatografií s kruhovou deskou na silikagelu s použitím směsi 5% methanolu a chloroformu s 0,1% hydroxidem amonným (R_f 0,1) jako eluentu za vzniku 140 mg (61 %) (5-{3-[(E)-2-(1H-imidazol-2-yl)vinyl]-1H-indazol-6-yloxy}2-methylfenyl)amidu 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny jako světle žluté pevné látky:

HPLC R_t = 11,8 minut, TLC R_f = 0,8 (10% směs methanolu a chloroformu s 0,1% hydroxidem amonným), ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,03 (s, 1H), 12,30 (š s, 1H), 9,78 (s, 1H), 8,00 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 7,54 (d, 1H, J = 16,8 Hz), 7,32 (d, 1H, J = 8,5 Hz), 7,27 (d, 1H, J = 16,9 Hz), 7,13-7,12 (m, 3H), 7,00-6,94 (m, 3H), 6,78 (s, 1H), 4,39 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 2,23 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 1,28 (t, 3H, J = 7,1 Hz). Anal. vypočteno pro $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{N}_7\text{O}_2 \cdot 0,5 \text{ H}_2\text{O} \cdot 0,4 \text{ hexan}$ (511,0 g/mol): C, 66,75, H, 6,23, N, 19,19. Změřeno: C, 66,95, H, 6,25, N, 18,83.

Výchozí látky byly připraveny takto:

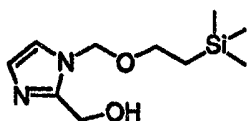
(i) Příprava 1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-imidazolu



2,0 g (29,4 mmol, 1,0 ekv.) 1H-imidazolu v 70 ml THF byly přidány při teplotě 0 °C k suspenzi 1,5 g (38,2 mmol, 1,3 ekv.) hydridu sodného (60% v minerálním oleji) ve 30 ml THF. Poté, co ustal vývoj plynu, byla směs zahřáta na teplotu místnosti po dobu 45 minut, a pak opět ochlazená na 0 °C. Bylo přidáno 5,4 ml (30,2 mmol, 1,0 ekv.) [2-(trimethylsilyl)-ethoxy]methylchloridu a směs byla zahřáta přes noc na teplotu místnosti. Reakce byla zastavena saturovaným hydrouhličitanem sodným, THF bylo odstraněno při sníženém tlaku a výsledná běžová suspenze byla extrahována ethylacetátem. Extrakty byly spojeny, promyty solankou, usušeny nad sulfátem hořečnatým, filtrovány a koncentrovány za vzniku 6,9 g jantarového oleje. Olej byl purifikován velmi rychlou chromatografií na silikagelu s použitím 2% směsi methanolu a chloroformu jako eluentu za vzniku 4,7 g (81 %) 1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-imidazolu jako světle jantarového oleje: TLC R_f = 0,3 (5% směs methanolu a chloroformu), ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 7,77 (s, 1H), 7,26 (d, 1H, J = 1,2 Hz), 6,93 (s,

1H), 5,32 (s, 2H), 3,45 (t, 2H, $J = 8,0$ Hz), 0,83 (t, 2H, $J = 8,0$ Hz), -0,05 (s, 9H), ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ 137,9, 128,8, 119,6, 74,8, 65,1, 17,1, -1,4.

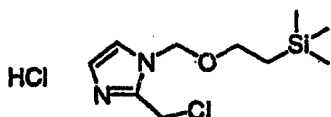
(ii) Příprava (1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-imidazol-2-yl)methanolu



3,0 g (15,4 mmol, 1,0 ekv.) 1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-imidazolu bylo rozpuštěno ve 150 ml THF a ochlazeno na -78 °C. Bylo přidáno 10,6 ml (16,9 mmol, 1,1 ekv.) n-BuLi, 1,6M v hexanu, a teplota byla ponechána zvýšit se na -40 °C po dobu 15 minut. Světle žlutý roztok byl míchán dalších 30 minut v -40 °C, pak byl anion zastaven 1,3 ml (16,9 mmol, 1,1 ekv.) DMF. Reakční směs byla přes noc zahřáta na teplotu místnosti, a pak zastavena vodou. Rozpouštědlo bylo odstraněno a směs byla extrahována dichlormethanem. Organická vrstva byla promyta vodou, usušena nad solankou a sulfátem hořečnatým, filtrována a koncentrována za vzniku 3,5 g surového produktu, TLC $R_f = 0,5$ (5% směs methanolu a chloroformu). Podle protonového NMR spektra je aldehydový proton přítomen v 9,73 ppm (300 MHz, DMSO- d_6). Surový produkt byl rozpuštěn v 15 ml methanolu, ochlazen na 0 °C a podroben působení 1,2 g (30,8 mmol, 2,0 ekv.) borohydridu sodného. Reakční směs byla přes noc zahřáta na teplotu místnosti. Rozpouštědlo bylo odstraněno a surový produkt byl naředěn chloroformem, promyt vodou, usušen nad solankou a sulfátem hořečnatým, filtrován a koncentrován za vzniku 3,6 g čirého oleje. Olej byl purifikován velmi rychlou chromatografií na silikagelu s použitím 3-6% směsi methanolu a chloroformu s 0,1% hydroxidem amonným jako eluentu za vzniku 1,4 g (41 %, 2

kroky) [1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-imidazol-2-yl]methanolu jako bílé pevné látky: TLC R_f = 0,4 (8% směs methanolu a chloroformu), ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 7,22 (d, 1H, J = 1,1 Hz), 6,81 (d, 1H, J = 1,0 Hz), 5,36 (s, 2H), 5,31 (br t, 1H, J = 5,2 Hz), 4,50 (d, 2H, J = 4,8 Hz), 3,48 (t, 2H, J = 8,0 Hz), 0,83 (t, 2H, J = 8,0 Hz), -0,05 (s, 9H), ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ 148,9, 127,8, 122,5, 75,5, 66,5, 56,9, 18,5, 0,0.

(iii) Příprava hydrochloridu 2-chlormethyl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-imidazolu

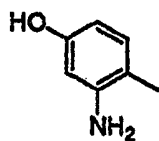


Roztok 0,87 ml (12,0 mmol, 3,0 ekv.) thionylchloridu v 8 ml chloroformu byl ochlazen na 0 °C a podroben působení roztoku 0,92 g (4,0 mmol, 1,0 ekv.) [1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-imidazol-2-yl]methanolu ve 2 ml chloroformu. Čirý roztok byl míchán při teplotě 0 °C po dobu 30 minut, a pak při teplotě místnosti po dobu 2 hodin. Rozpouštědlo bylo odstraněno a produkt byl postupně suspendován a koncentrován s použitím chloroformu, toluenu a cyklohexanu za vzniku 1,1 g (97 %) hydrochloridu 2-chlormethyl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-imidazolu jako béžové pevné látky: ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 7,85 (d, 1H, J = 1,9 Hz), 7,70 (d, 1H, J = 1,9 Hz), 5,62 (s, 2H), 5,14 (s, 2H), 3,57 (t, 2H, J = 8,3 Hz), 0,90 (t, 2H, J = 8,3 Hz), -0,02 (s, 9H), ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ 142,1, 123,2, 120,2, 76,5, 66,8, 31,7, 17,3, -1,4.

(iv) Příprava 3-amino-4-methylfenolu

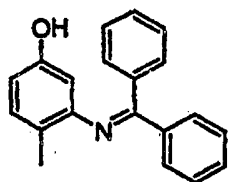
25.06.03

342



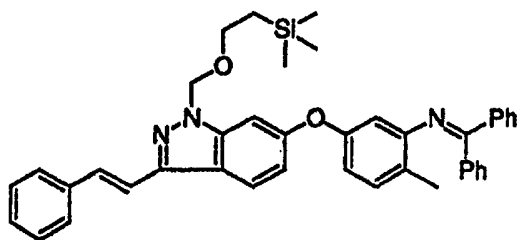
Černá pevná látka (95 %), HPLC Rt = 4,4 minut, ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8,61 (s, 1H), 6,64 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 6,05 (d, 1H, J = 2,4 Hz), 5,88 (dd, 1H, J = 8,0, 2,4 Hz), 4,64 (s, 2H), 1,92 (s, 3H), ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ 156,1, 147,2, 130,2, 111,7, 103,3, 101,1, 16,6.

(v) Příprava 3-(benzhydrylidenamino)-4-methylfenolu



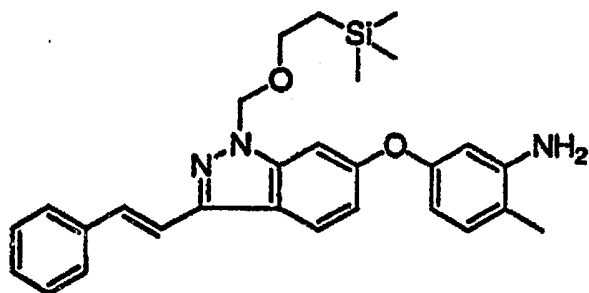
Žlutá pevná látka (49 %), tt 106-108 °C, HPLC Rt = 15,3 minut, TLC R_f = 0,2 (10% směs ethylacetátu a cyklohexanu), ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8,91 (s, 1H), 7,67-7,56 (m, 2H), 7,53-7,43 (m, 3H), 7,35-7,31 (m, 3H), 7,13-7,10 (m, 2H), 6,82 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 6,22 (dd, 1H, J = 8,1, 2,5 Hz), 5,88 (d, 1H, J = 2,5 Hz), 1,97 (s, 3H), ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ 165,4, 155,2, 150,6, 138,9, 136,0, 130,8, 130,2, 128,7, 128,4, 128,2, 128,0, 117,3, 109,9, 106,2, 17,0.

(vi) Příprava benzhydryliden-{2-methyl-5-[3-((E)styryl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-6-yloxy]fenyl}aminu



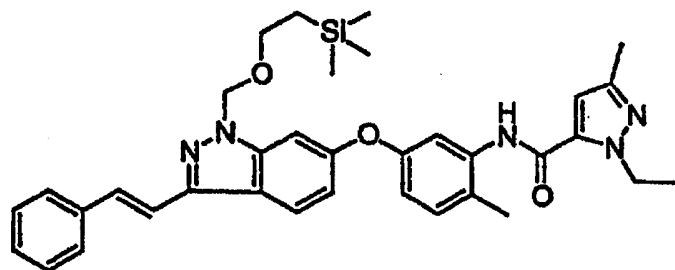
Do baňky s kulatým dnem bylo vloženo 5,5 g (26,0 mmol, 2,0 ekv.) fosfátu draselného, 3,9 g (13,6 mmol, 1,1 ekv.) 3-(benzhydrylidenamino)-4-methylfenolu, 6,2 g (13,0 mmol, 1,0 ekv.) 6-jod-3-((E)styryl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazolu a 130 ml o-xylenu. Výsledná suspenze byla odplyněna, probublána argonem a podrobena působení 916 mg (1,1 mmol, 8 mol%) směsi tris(dibenzylidenaceton)dipalladia(0) a 656 mg (2,2 mmol, 16 mol%) bifenyl-2-yl-di-terc-butylofosfanu. Baňka byl ponořena do olejové lázně a míchána v 100 °C po dobu 18 hodin. Černá suspenze byla ochlazená na teplotu místnosti, filtrována přes celit a koncentrována. Černý olej byl rozpuštěn v chloroformu, promyt vodou, solankou, usušen nad sulfátem hořečnatým, filtrován a koncentrován za vzniku 12,1 g černého oleje. Surový produkt byl purifikován velmi rychlou chromatografií na silikagelu s použitím 10-15% směsi etheru a cyklohexanu jako eluentu za vzniku 1,4 g (16 %) benzhydryliden-{2-methyl-5-[3-((E)styryl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-6-yloxy]fenyl}aminu jako žluté pěny z etheru: HPLC Rt = 24,3 minut, TLC R_f = 0,5 (20% směs etheru a cyklohexanu), ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 8,10 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 7,75-7,66 (m, 4H), 7,53-7,31 (m, 11H), 7,14-7,08 (m, 4H), 6,62 (dd, 1H, J = 8,8, 2,0 Hz), 6,55 (dd, 1H, J = 8,2, 2,5 Hz), 6,20 (d, 1H, J = 2,4 Hz), 5,64 (s, 2H), 3,51 (t, 2H, J = 7,8 Hz), 2,12 (s, 3H), 0,78 (t, 2H, J = 7,7 Hz), -0,14 (s, 9H).

(vii) Příprava 2-methyl-5-[3-((E)styryl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-6-yloxy]fenylaminu



Jantarový olej (80 %), HPLC R_t = 21,0 minut, TLC R_f = 0,4 (20% směs ethylacetátu a cyklohexanu), ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8,18 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 7,74–7,71 (m, 2H), 7,52 (s, 2H), 7,43–7,38 (m, 2H), 7,33–7,28 (m, 1H), 7,20 (d, 1H, J = 2,0 Hz), 6,97–6,90 (m, 2H), 6,33 (d, 1H, J = 2,4 Hz), 6,16 (dd, 1H, J = 8,0, 2,5 Hz), 5,66 (s, 2H), 5,01 (š s, 2H), 3,52 (t, 2H, J = 8,0 Hz), 2,03 (s, 3H), 0,80 (t, 2H, J = 8,0 Hz), -0,11 (s, 9H).

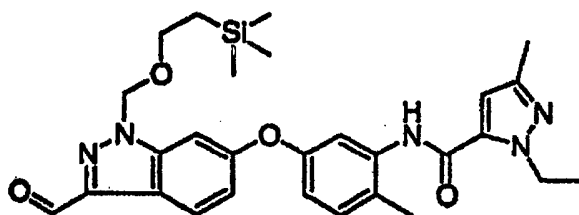
(viii) Příprava {2-methyl-5-[3-((E)styryl)-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-6-yloxy]fenyl}amidu 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny



Bílá pěna (85 %), HPLC R_t = 21,5 minut, TLC R_f = 0,2 (20% směs ethylacetátu a cyklohexanu), ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 9,75 (s, 1H), 8,24 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 7,74–7,72 (m, 2H), 7,53 (s, 2H), 7,43–7,38 (m, 2H), 7,34–7,28 (m, 3H), 7,12 (d, 1H, J = 2,6 Hz), 7,00 (dd, 1H, J = 8,8, 2,0 Hz), 6,92 (dd, 1H, J = 8,3, 2,5 Hz), 6,78 (s, 1H), 5,69 (s, 2H), 4,40 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 3,53 (t, 2H, J = 7,9 Hz), 2,22 (s, 3H), 2,19 (s, 3H),

1,27 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz), 0,78 (t, 2H, $J = 7,9$ Hz), -0,15 (s, 9H).

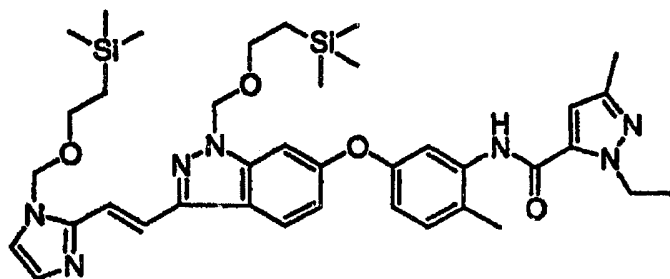
(ix) Příprava {5-[3-formyl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-6-yloxy]-2-methylfenyl}amidu 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny



Roztok 774 mg (1,28 mmol, 1,0 ekv.) {2-methyl-5-[3-((E)styryl)-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-6-yloxy]fenyl}amidu 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny v 8 ml 1,4-dioxanu a 2 ml vody byl podroben působení 7 mg (0,03 mmol, 0,02 ekv.) oxidu osmičelého. Roztok byl míchán po dobu 5 minut, a pak byl podroben působení 822 mg (3,84 mmol, 3,0 ekv.) jodistanu sodného. Výsledná hustá žlutohnědá suspenze byla míchána přes noc při teplotě místnosti, nalita do 100 ml 15% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ a extrahována ethylacetátem. Organická vrstva byla promyta saturovaným hydrouhličitánem sodným, solankou, usušena nad sulfátem hořečnatým, filtrována a koncentrována za vzniku 902 mg jantarového oleje. Surový produkt byl purifikován chromatografií s kruhovou deskou na silikagelu s použitím 10-50% směsi ethylacetátu a cyklohexanu jako eluentu za vzniku 590 mg (86 %) {5-[3-formyl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-6-yloxy]-2-methylfenyl}amidu 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny jako béžové pevné látky z etheru: HPLC $R_t = 18,9$ minut, TLC $R_f = 0,2$ (40% směs ethylacetátu a cyklohexanu), ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 10,16 (s, 1H, 9,75 (s, 1H), 8,14 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 7,48 (d, 1H, J

= 1,8 Hz), 7,32 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,16-7,13 (m, 2H), 6,93 (dd, 1H, $J = 8,3, 2,6$ Hz), 6,78 (s, 1H), 5,84 (s, 2H), 4,39 (q, 2H, $J = 7,1$ Hz), 3,55 (t, 2H, $J = 7,8$ Hz), 2,23 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 1,27 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz), 0,79 (t, 2H, $J = 7,8$ Hz), -0,15 (s, 9H).

(x) Příprava 2-methyl-5-(1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-3-((E)-2-[1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-imidazol-2-yl]vinyl)-1H-indazol-6-yloxy)fenyl]amidu 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny

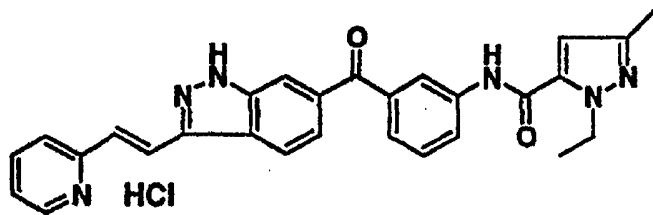


Roztok 344 mg (1,22 mmol, 2,0 ekv.) hydrochloridu 2-chlormethyl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-imidazolu ve 20 ml chloroformu byl převeden na formu volné báze saturevaným hydrouhličitánem sodným. Organická vrstva byla usušena nad solankou a sulfátem hořečnatým, filtrována a koncentrována za vzniku 301 mg (100 %) jantarového oleje. Výsledný olej byl rozpuštěn ve 12 ml acetonitrilu, byl podroben působení 304 mg (1,16 mmol, 1,9 ekv.) trifenylfosfinu a zahříván na 70 °C po dobu 18 hodin. Rozpouštědlo bylo odstraněno a surový 1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-2-[(trifenyl- λ^5 -fosfanyl)methyl]-1H-imidazolchlorid byl rozpuštěn ve 12 ml THF, ochlazeného na -78 °C a podroben působení 1,2 ml (1,22 mmol, 2,0 ekv.) terc-butoxidu draselného, 1,0M v THF. Po 15 minutách bylo přidáno 325 mg (0,61 mmol, 1,0 ekv.) {5-[3-formyl-1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-indazol-6-yloxy]-2-methylfenyl}amidu 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové

kyseliny v 1 ml THF k ylidu v -78°C . Čirý žlutý roztok byl přes noc zahřát na teplotu místnosti, zastaven vodou a extrahován ethylacetátem. Organická vrstva byla promyta solankou, usušena nad sulfátem hořečnatým, filtrována a koncentrována za vzniku 1,0 g surového produktu jako jantarového oleje. Surový produkt byl purifikován další chromatografií s kruhovou deskou na silikagelu s použitím 0-5% směsi methanolu a chloroformu jako eluentu za vzniku 390 mg (88 %) [2-methyl-5-(1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-3-((E)-2-[1-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-1H-imidazol-2-yl]vinyl)-1H-indazol-6-yloxy)fenyl]amidu 2-ethyl-5-methyl-2H-pyrazol-3-karboxylové kyseliny jako žlutohnědé pevné látky po stání přes noc: HPLC $R_t = 20,6$ minut, TLC $R_f = 0,4$ (4% směs methanolu a dichlormethanu), ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,75 (s, 1H), 8,14 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 7,64 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz), 7,42 (d, 1H, $J = 16,3$ Hz), 7,39-7,35 (m, 3H), 7,30 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 7,12 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz), 7,03 (s, 1H), 6,99 (dd, 1H, $J = 8,8, 1,9$ Hz), 6,78 (s, 1H), 5,70 (s, 2H), 5,55 (s, 2H), 4,40 (q, 2H, $J = 7,1$ Hz), 3,55-3,48 (m, 4H), 2,22 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 1,27 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz), 0,84 (t, 2H, $J = 7,9$ Hz), 0,77 (t, 2H, $J = 7,9$ Hz), -0,11 (s, 9H), -0,15 (s, 9H).

Příklad 59(a)

Hydrochlorid 6-[3-((1-ethyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karbox-amido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazolu

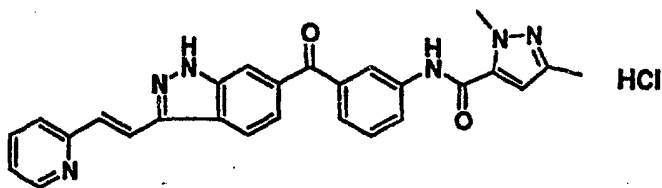


4,57 g (9,59 mmol, 1 ekv.) sloučeniny z příkladu 41(a) bylo nabráno do 96 ml methanolu a chráněno před světlem

aluminiovou folií. Druhá baňka s 20 ml methanolu byla podrobena působení 684 μ l (1,00 ekv.) acetylchloridu po dobu 5 minut. Roztok kyseliny pak byl přidán k první směsi a směs byla několikrát promyta ~20 ml methanolu. Těkavá látka byla odstraněna při sníženém tlaku a zbytek byl triturován 1:1 směsí ethylacetátu a hexanu za vzniku 4,82 g (98 %) žlutého prášku po filtraci a usušení: analyzováno s 1,0 H₂O, vypočteno: C (61,85), H (5,07), N (15,46). Změřeno: C (61,15), H (5,15), N (15,38).

Příklad 59(b)

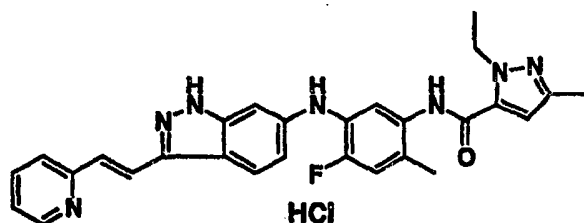
Hydrochlorid 6-[3-((1,3-dimethyl-1H-pyrazol-5-yl)karbox-amido)benzoyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazolu



Sloučenina z příkladu 59(b) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 59(a) kromě toho, že sloučenina z příkladu 41(p) byla použita namísto sloučeniny z příkladu 41(a). HPLC: 3,92 minut (100% oblast), ¹H NMR (DMSO) δ 10,45 (s, 1H), 8,85 (d, 1H, J = 4,8 Hz), 8,49 (d, 1H, J = 8,7 Hz), 8,38-8,30 (m, 4H), 8,21 (dt, 1H, J = 7,5, 2,1 Hz), 8,01 (s, 1H), 7,90-7,79 (m, 2H), 7,72-7,64 (m, 3H), 6,70 (s, 1H), 4,30 (s, 3H), 2,33 (s, 3H). Anal. (C₂₇H₂₀N₄O₂S · 1,3 H₂O · 0,2 EtOAc): vypočteno C, 62,15, H, 5,18, N, 15,64, změřeno C, 61,81, H, 5,01, N, 15,64.

Příklad 59(c)

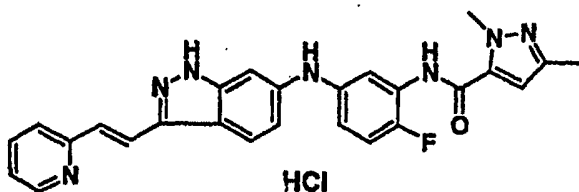
Hydrochlorid 6-[N-(5-((1-ethyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)-karboxamido)-2-fluor-4-methylfenyl)amino]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazolu



Sloučenina z příkladu 59(c) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 59(a) kromě toho, že sloučenina z příkladu 48(a) byla použita namísto sloučeniny z příkladu 41(a). Anal. výpočet: C, 63,21, H, 5,12, N, 38,43, Cl, 6,66. Změřeno: C, 60,86, H, 5,38, N, 17,28, Cl, 6,52.

Příklad 59(d)

Hydrochlorid 6-[N-(3-((1,3-dimethyl-1H-pyrazol-5-yl)karboxamido)-4-fluorfenyl)amino]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazolu

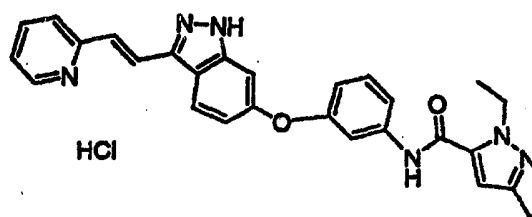


Sloučenina z příkladu 59(d) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 59(a) kromě toho, že sloučenina z příkladu 49(a) byla použita namísto sloučeniny z příkladu 41(a). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,2 (b, 1H), 9,97 (s, 1H), 8,75 (d, 1H, J = 5,44 Hz), 8,51 (š s, 1H), 8,35 (m, 2H), 8,20 (d, 1H, J = 16,59 Hz), 8,06 (d, 1H, J = 8,81 Hz), 7,71 (d, 1H, J = 16,59 Hz), 7,70 (m, 1H), 7,44 (dd, 1H, J = 6,65 Hz, J = 2,67 Hz), 7,24 (t, 1H, J = 9,54 Hz), 7,12 (d, 1H, J = 1,46

Hz), 7,05 (m, 2H), 6,86 (s, 1H), 4,0 (s, 3H), 3,84 (š s, 1H, 2,20 (s, 3H).

Příklad 59(e)

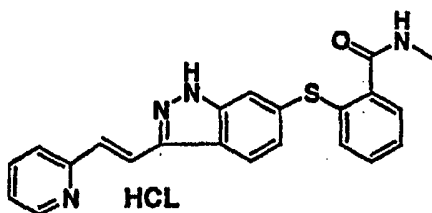
Hydrochlorid 6-[3-((1-ethyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)karbox-amido)fenoxy]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazolu



Sloučenina z příkladu 59(e) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 59(a) kromě toho, že sloučenina z příkladu 31(d) byla použita namísto sloučeniny z příkladu 41(a). ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 13,53 (s, 1H), 10,23 (s, 1H), 8,78 (d, 1H, $J = 5,5$ Hz), 8,30 (m, 4H), 7,80 (m, 2H), 7,59 (d, 1H, $J = 7,7$ Hz), 7,55 (s, 1H), 7,41 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz), 7,11 (s, 2H), 6,88 (d, 1H, $J = 6,7$ Hz), 6,81 (s, 1H), 4,38 (q, 2H, $J = 7,0$ Hz), 3,75 (š s, 1H), 2,19 (s, 3H), 1,29 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz). Anal. výpočet pro $\text{C}_{27}\text{H}_{25}\text{ClN}_6\text{O}_2 \cdot 1,7 \text{ H}_2\text{O} \cdot 0,1 \text{ EtOAc}$: C, 60,89, H, 5,45, N, 15,55. Změřeno: C, 60,88, H, 5,51, N, 15,27.

Příklad 59(f)

Hydrochlorid 6-[2-(methylkarbamoyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]indazolu



Sloučenina z příkladu 59(f) byla připravena podobným způsobem, jako v příkladu 59(a) kromě toho, že sloučenina z příkladu 33(a) byla použita namísto sloučeniny z příkladu 41(a). Analyzováno s 2,0 H₂O, vypočteno C, 57,58, H, 5,05, N, 12,21, Cl, 6,99. Změřeno: C, 57,24, H, 5,048, N, 11,91: Cl, 6,63.

Příklady sloučenin popsaných výše mohou být testovány na aktivitu s použitím testů popsaných níže.

Biologické testování: enzymové testy

Stimulace buněčné proliferace růstovými faktory, jako je například VEGF, FGF a další, závisí na jejich indukci autofosforylace každého z jejich příslušných receptorů tyrozinkináz. Tudíž schopnost inhibitoru proteinkinázy blokovat autofosforylaci může být měřena inhibicí peptidových substrátů. Pro měření proteinkinázové inhibiční aktivity sloučenin byly navrženy následující konstrukty.

Konstrukt VEGF-R2 pro test:

Tento konstrukt zjišťuje schopnost testované sloučeniny inhibovat aktivitu tyrozinkinázy. Konstrukt (VEGF-R2Δ50) cytosolové domény receptoru 2 humánního vaskulárního endotelového růstového faktoru (VEGF-R2) s chybějícími 50 centrálními zbytky ze 68 zbytků inzerční kinázové domény byl

exprimován v systému bakulovirus/hmyzí buňky. Ze 1356 zbytků kompletního VEGF-R2 obsahuje VEGF-R2 Δ 50 zbytky 806 až 939 a 990 až 1171, a také jednu bodovou mutaci (E990V) v inzerční kinázové doméně relativně k VEGF-R2 divokého typu. Autofosforylace purifikovaného konstruktů byla prováděna inkubací enzymu v koncentraci 4 μ M v přítomnosti 3 mM ATP a 40mM MgCl₂ ve 100mM HEPES, pH 7,5, obsahujícím 5% glycerol a 5mM DTT, ve 4 °C po dobu 2 hodin. Po autofosforylaci bylo ukázáno, že tento konstrukt má katalytickou aktivitu v podstatě totožnou s konstruktem obsahujícím autofosforylovanou kinázovou doménou divokého typu. (viz Parast et al., Biochemistry, 37, 16788-16801, 1998).

Konstrukt FGF-R1 pro test:

Intracelulární kinázová doména humánního FGF-R1 byla exprimována s použitím bakulovirového vektorového expresního systému počínaje endogenním methioninovým zbytkem 456 ke glutamátu 766, podle systému číslování zbytků podle autorů Mohammadi et al. (Mol. Cell. Biol., 16, 977-989, 1996). Kromě toho konstrukt také má následující substituce 3 aminokyselin: L457V, C488A a C584S.

Konstrukt LCK pro test:

LCK tyrozinkináza byla exprimována v hmyzích buňkách jako N-koncová delece počínaje aminokyselinovým zbytkem 223 ke konci proteinu ve zbytku 509, s následujícími substitucemi dvou aminokyselin v N-koncové části: P233M a C224D.

Konstrukt CHK1 pro test:

Kompletní humánní CHK1 (FL-CHK1) se značkou His na C-koncové části byl exprimován s použitím systému

bakulovirus/hmyzí buňky. Obsahuje 6 histidinových zbytků (6 x značka His) v C-koncové části 476 aminokyselin humánního CHK1. Protein byl purifikován obvyklými chromatografickými technikami.

Konstrukt CDK2/cyklin A pro test:

CDK2 byl purifikován s použitím publikované metody (Rosenblatt et al., J. Mol. Biol., 230, 1317-1319, 1993) z hmyzích buněk, které byly infikovány bakulovirovým expresním vektorem. Cyklin A byl purifikován z buněk E. Coli exprimujících kompletní rekombinantní cyklin A a zkrácený konstrukt s cyklinem A byl vytvořen limitovanou proteolýzou a purifikován, jak bylo popsáno dříve (Jeffrey et al., Nature, 376, 313-320, 1995).

Konstrukt CDK4/cyklin D pro test:

Komplex humánního CDK4 a cyklinu D3 nebo komplex cyklinu D1 a fúzního proteinu humánního CDK4 a glutathion-S-transferázy (GST-CDK4), byl purifikován s použitím tradičních biochemických chromatografických technik z hmyzích buněk, které byly současně infikovány (koinfikovány) odpovídajícími bakulovirovými expresními vektory.

Konstrukt FAK pro test:

Katalytická doména humánního FAK (FAKcd409) byla exprimována s použitím bakulovirového vektorového expresního systému. Exprimovaná doména s 280 aminokyselinami obsahuje zbytky methionin 409 až glutamát 689. Existuje jedna aminokyselinová substituce (P410T) relativně k přístupovému číslu sekvence I13616, publikováno autory Whitney, G.S. Et al.

(DNA Cell Biol, 9, 823-30, 1993). Protein byl purifikován s použitím techniky klasické chromatografie.

Konstrukt TIE-2 (TEK) pro test:

Doména tyrozinkinázy TIE-2 byla exprimována v hmyzích buňkách jako N-koncová delece počínaje aminokyselinovým zbytkem 774 ke konci proteinu ve zbytku 1124. Tento konstrukt také nese mutaci R774M, která slouží jako iniciační methioninový zbytek při translaci.

Test VEGF-R2

Spřažený spektrofotometrický (FLVK-P) test

Produkce ADP z ATP, která doprovází transfer fosfátu byla spřažena s oxidací NADH využitím fosfoenolpyruvátu (PEP) a systému s pyruvátkinázou (PK) a laktátdehydrogenázou (LDH). Oxidace NADH byla monitorována poklesem absorbance při 340 nm ($\epsilon_{340} = 6,22 \text{ cm}^{-1} \text{ mM}^{-1}$) s použitím spektrofotometru Beckman DU 650. Podmínky testu pro fosforylovaný VEGF-R2 Δ 50 (označen jako FLVK-P v tabulkách uvedených níže) byly následující: 1mM PEP, 250 μ M NADH, 50 jednotek LDH/ml, 20 jednotek PK/ml, 5mM DTT, 5,1mM poly(E₄Y₁), 1mM ATP a 25 mM MgCl₂ v 200 mM HEPES, pH 7,5. Podmínky testu pro nefosforylovaný VEGF-R2 Δ 50 (označen jako FLVK v tabulkách) byly následující: 1mM PEP, 250 μ M NADH, 50 jednotek LDH/ml, 20 jednotek PK/ml, 5mM DTT, 20mM poly(E₄Y₁), 3mM ATP a 60mM MgCl₂ a 2mM MnCl₂ ve 200mM HEPES, pH 7,5. Testy byly iniciovány s 5 až 40 nM enzymu. Hodnoty K_i byly zjišťovány měřením enzymové aktivity v přítomnosti měnící se koncentrace testované sloučeniny. Data byla analyzována s použitím software Enzyme Kinetic a Kaleidagraph.

Test ELISA

Tvorba fosfogastrinu byla monitorována s použitím biotinylovaného peptidu gastrinu (1-17) jako substrátu. Biotinylovaný fosfogastrin byl imobilizován s použitím streptavidinem potažených 96 jamkových mikrotitračních destiček, pak následovala detekce s použitím protilátky anti-fosfotyrozín konjugované s křenovou peroxidázou. Aktivita křenové peroxidázy byla monitorována s použitím diamonné soli 2,2'-azinodi[3-ethylbenzathiazolinsulfonátu(6)] (ABTS). Typické roztoky testu obsahovaly: 2 μ M biotinylovaný peptid gastrin, 5mM DTT, 20 μ M ATP, 26mM $MgCl_2$ a 2mM $MnCl_2$ ve 200mM HEPES, pH 7,5. Test byl iniciován s 0,8 nM fosforylovaného VEGF-R2 Δ 50. Aktivita křenové peroxidázy byla testována s použitím 10mM ABTS. Reakce křenové peroxidázy byla zastavena přidáním kyseliny (H_2SO_4), pak následovalo odečítání absorbance ve 405 nm. Hodnoty K_i byly zjišťovány měřením enzymové aktivity v přítomnosti měnící se koncentrace testované sloučeniny. Data byla analyzována s použitím software Enzyme Kinetic a Kaleidagraph.

Test FGF-R

Spektrofotometrický test byl prováděn, jak bylo popsáno výše pro VEGF-R2, kromě následujících změn koncentrace: FGF-R = 50 nM, ATP = 2 mM a poly(E4Y1) = 15 mM.

Test LCK

Spektrofotometrický test byl prováděn, jak bylo popsáno výše pro VEGF-R2, kromě následujících změn koncentrace: LCK = 60 nM, $MgCl_2$ = 0 mM, poly(E4Y1) = 20 mM.

Test CHK1

Produkce ADP z ATP, která doprovází přenos fosfátu na syntetický substrátový peptid Syntide-2 (PLARTLSVAGLPGKK) byla spřažena s oxidací NADH s použitím fosfoenolpyruvátu (PEP) prostřednictvím působení pyruvátkinázy (PK) a laktátdehydrogenázy (LDH). Oxidace NADH byla monitorována poklesem absorbance v 340 nm ($\epsilon_{340} = 6,22 \text{ cm}^{-1} \text{ mM}^{-1}$) s použitím spektrofotometru HP8452. Typické roztoky testu obsahovaly: 4mM PEP, 0,15mM NADH, 28 jednotek LDH/ml, 16 jednotek PK/ml, 3mM DTT, 0,125 mM Syntide-2, 0,15mM ATP, 25mM MgCl_2 v 50mM TRIS, pH 7,5 a 400mM NaCl. Testy byly iniciovány s 10nM FL-CHK1. Hodnoty K_i byly zjišťovány měřením počáteční enzymové aktivity v přítomnosti měnících se koncentrací testovaných sloučenin. Data byla analyzována s použitím software Enzyme Kinetic a Kaleidagraph.

Testy CDK2/cyklinu A a CDK4/cyklinu D

Kinázová aktivita závislá na cyklinu byla měřena kvantifikací enzymem katalyzované, na čase závislé inkorporace radioaktivního fosfátu z $[^{32}\text{P}]\text{ATP}$ do rekombinantního fragmentu retinoblastomového proteinu. Není-li uvedeno jinak, byly testy prováděny na 96 jamkových destičkách v celkovém objemu 50 μl , v přítomnosti 10 mM HEPES (N-[2-hydroxyethyl]piperazin-N'-[2-ethansulfonová kyselina]) (pH 7,4), 10mM MgCl_2 , 25 μM adenosintrifosfátu (ATP), 1 mg/ml ovalbuminu, 5 $\mu\text{g/ml}$ leupeptinu, 1mM dithiothreitolu, 10mM β -glycerofosfátu, 0,1mM vanadičnanu sodného, 1mM fluoridu sodného, 2,5mM ethylenglykol-bis(β -aminoethylether)-N,N,N',N'-tetraoctové kyseliny (EGTA), 2% (objem/objem) dimethylsulfoxidu a 0,03 až 0,2 μCi $[^{32}\text{P}]\text{ATP}$. Substrát (0,3-0,5 μg) byl purifikovaný fragment rekombinantního retinoblastomového proteinu (Rb)

(zbytky 386-928 nativního retinoblastomového proteinu, 62,3 kD, obsahující většinu fosforylačních míst zjištěných v nativním proteinu o velikosti 106 kD, a také značku šesti histidinových zbytků pro snadnou purifikaci). Reakce byly iniciovány s CDK2 (150 nM komplexu CDK2/cyklin A) nebo CDK4 (50 nM komplexu CDK4/cyklin D3), inkubovány ve 30 °C a ukončeny po 20 minutách přidáním ethylendiamintetraoctové kyseliny (EDTA) do koncentrace 250 mM. Fosforylovaný substrát pak byl zachycen na nitrocelulózové membráně s použitím filtračního zařízení pro 96jamkové destičky a neinkorporovaná radioaktivita byla odstraněna opakovaným promytím 0,85% kyselinou fosforečnou. Radioaktivita byla kvantifikována expozicí suché nitrocelulózové membrány pomocí zobrazovacího zařízení Phosphorimager. Zjevné hodnoty K_i byly měřeny testováním enzymové aktivity v přítomnosti různých koncentrací sloučeniny a odečtením radioaktivity pozadí měřené bez enzymu. Kinetické parametry (k_{cat} , K_m pro ATP) byly měřeny pro každý enzym v obvyklých testovacích podmínkách určením závislosti počátečních rychlostí na koncentraci ATP. Data byla proložena závislostí pro kompetitivní inhibici s použitím software Kaleidagraph (Synergy Software) nebo byla proložena závislostí pro kompetitivní inhibici s těsnou vazbou použitím software KineTic (BioKin, Ltd.). Změřené hodnoty K_i pro známé inhibitory CDK4 a CDK2 souhlasily s publikovanými hodnotami IC_{50} . Specifická aktivita CDK4 byla stejná, ať v komplexu s konstruktem kompletního cyklinu D3 nebo zkráceného cyklinu D3, oba komplexy také poskytly velmi podobné hodnoty K_i pro vybrané inhibitory.

Test FAK

Pro FAK HTS byl použit test fluorescenční polarizace poskytnutý firmou LJI Biosystems. Kinázová reakce obsahovala: 100mM Hepes pH 7,5, 10mM $MgCl_2$, 1mM DTT, 1mM ATP a 1 mg/ml poly

Glu-Tyr (4:1). Reakce byla iniciována přidáním 5nM FAKcd409. Reakce byla ukončena přidáním EDTA, pak následovalo přidání peptidu značeného fluorem a anti-fosfotyrozínové protilátky, poskytnuto firmou LJL Biosystémy. Výsledky inhibice byly odečítány na detektoru Analyst (LJL).

Spektrofotometrický test TIE-2

Kinázou katalyzovaná produkce ADP z ATP, která doprovází přenos fosfátu na náhodný kopolymer poly(Glu₄Tyr) byla spřažena s oxidací NADH s použitím aktivity pyruvátkinázy (PK) a laktátdehydrogenázy (LDH). NADH konverze na NAD⁺ byla monitorována poklesem v absorbance ve 340 nm ($\epsilon = 6,22 \text{ cm}^{-1} \text{ mM}^{-1}$) s použitím spektrofotometru Beckman DU650. Typické reakční roztoky obsahovaly 1mM fosfoenolpyruvát, 0,24mM NADH, 40mM MgCl₂, 5mM DTT, 2,9 mg/ml poly(Glu₄Tyr), 0,5mM ATP, 15 jednotek/ml PK, 15 jednotek/ml LDH ve 100mM HEPES, pH 7,5. Testy byly iniciovány přidáním 4 až 12 nM fosforylované Tie-2 (aa 775 až 1122). Procento inhibice bylo zjišťován v trojím opakování při 1 μ M hladině inhibitoru.

Test TIE-2 DELFIA

Tvorba fosfotyrozínu byla monitorována s použitím biotinylovaného p34cdc2 (aa 6 až 20 = KVEKIGEGTYGVVYK) peptidu jako substrátu. Biotinylovaný peptid byl imobilizován s použitím NeutrAvidinemTM potažených 96 jamkových mikrotitračních destiček, pak následovala detekce s použitím protilátky anti-fosfotyrozín (PY20) konjugované s europium N1 chelátem. Typické roztoky pro test obsahovaly: 1 μ M biotinylovaný peptid p34cdc2, 150 μ M ATP, 5mM MgCl₂, 1mM DTT, 0,01% BSA, 5% glycerol, 2% DMSO, 25mM HEPES, pH 7,5. Test byl iniciován na destičce NeutrAvidin s 50nM intracelulární domény

TIE2. Kinázová reakce byla ukončena 50mM EDTA. Destičky pak byly promyty a byla přidána protilátka s europiem. Po inkubaci byly destičky opět promyty a byl přidán zesilovací roztok DELFIA™. Destičky byly odečítány ve standardním nastavení pro detekci europa (ex 340 nm, em 615 nm, zpoždění 400 μ sec, okno 400 μ sec). Procento inhibice bylo vypočteno s použitím referenčních jamek na destičce, do kterých bylo přidáno DMSO a ne sloučenina v DMSO, a pozadí bylo odečteno od experimentálních i kontrolních jamek se vztahem k referenčním jamkám na destičce, do kterých byla přidána EDTA před přidáním enzymu.

Test proliferace buněk HUVEC

Tento test určoval schopnost testované sloučeniny inhibovat růstovými faktory stimulovanou proliferaci endotelových buněk lidské umbilikální žíly („HUVEC“). HUVEC buňky (pasáž 3-4, Clonetics, Corp.) byly rozmrazeny do kultivačního média EGM2 (Clonetics Corp) v lahvích T75. O 24 hodin později bylo do lahví přidáno čerstvé médium EGM2. Čtyři nebo pět dnů později byly buňky vystaveny dalšímu kultivačnímu médiu (médium F12K doplněné 10% fetálním bovinním sérem (FBS), 60 μ g/ml růstovým doplňkem pro endotelové buňky (ECGS) a 0,1 mg/ml heparinu). Exponenciálně narůstající buňky HUVEC potom byly použity v experimentech. Deset až dvanáct tisíc buněk HUVEC bylo nanášeno na 96 jamkové destičky ve 100 μ l bohatého kultivačního média (popsaného výše). Buňky byly ponechány přichytit se po dobu 24 hodin v tomto médiu. Médium pak bylo odstraněno odsátím a do každé jamky bylo přidáno 105 μ l deficitního („hladovění“) media (F12K+1% FBS). Po 24 hodinách bylo přidáno 15 μ l testovaného činidla rozpuštěného v 1% DMSO v deficitním médiu nebo v tomto vehikulu samotném ke každé ošetřené jamce, konečná DMSO koncentrace byla 0,1 %. Jednu

hodinu později bylo přidáno 30 μ l VEGF (30 ng/ml) v deficitním médiu do všech jamek, kromě těch, co obsahovaly neošetřené kontroly, konečná VEGF koncentrace byla 6 ng/ml. Buněčná proliferace byla kvantifikována 72 hodin později redukcí barviva MTT, v tomto okamžiku byly buňky exponovány po dobu 4 hodin MTT (Promega Corp.). Redukce barviva byla zastavena přidáním zastavovacího roztoku (Promega Corp.) a byla zjišťována absorbance v 595 λ na spektrofotometrickém čtecím zařízení pro 96 jamkové destičky.

Hodnoty IC_{50} byly vypočteny prokládáním křivky reakce A^{595} na různé koncentrace testovaného činidla, typicky bylo použito sedm koncentrací odstupňovaných po 0,5 log, s trojím opakováním jamek v každé koncentraci. Pro screening destiček s knihovnou sloučenin byla použita jedna nebo dvě koncentrace (jedna jamka na koncentraci) a % inhibice bylo vypočteno z následujícího vzorce:

$$\% \text{ inhibice} = (\text{kontrola} - \text{test}) = (\text{kontrola} - \text{hladovění})$$

Kde

Kontrola = A^{595} , když je VEGF přítomný bez testovaného činidla

Test = A^{595} , když je VEGF přítomný s testovaným činidlem

Hladovění = A^{595} , když chybí VEGF i testované činidlo.

Test proliferace buněk karcinomu (MV522)

Protokol pro stanovení buněčné proliferace v karcinomových buňkách je podobný testu použitému pro hodnocení HUVEC buněk. Dva tisíce buněk plicního karcinomu (linie MV522, získaná od American Tissue Cultural Collection) bylo nasazeno do růstového média (médiu RPMI1640 doplněné 2mM glutaminem a 10% FBS). Buňky byly ponechány přichytit se po dobu 1 dne před přidáním testovaných činidel a/nebo vehikul. Buňky byly ošetřeny současně stejnými testovanými činidly použitými v

HUVEC testu. Buněčná proliferace byla kvantifikována redukčním testem barviva MTT 72 hodin po expozici testovaným činidlům. Celková délka testu je 4 dny proti 5 dnům pro buňky HUVEC, protože MV522 buňky nebyly vystaveny deficitnímu médiu (hladovění).

Test PK na myších

Farmakokinetika (např. absorpce a eliminace) léků v myších byla analyzována s použitím následujícího experimentu. Testované sloučeniny byly formulovány jako roztok nebo suspenze v 30:70 (PEG 400: acidifikován H_2O) vehikulu nebo jako suspenze v 0,5% CMC. Toto bylo podáváno perorálně (p.o.) a intraperitoneálně (i.p.) ve variabilních dávkách dvěma různým skupinám ($n = 4$) samic myši B6. Krevní vzorky byly odebírány z orbitální vény v časových bodech: 0 hodin (před dávkou), 0,5 hodiny, 1,0 hodina, 2,0 hodiny a 4,0 hodiny a 7,0 hodin po dávce. Plazma byla získána z každého vzorku centrifugací v 2500 rpm po dobu 5 minut. Testovaná sloučenina byla extrahována z plazmy metodou organické precipitace proteinu. Pro každý časový odběr bylo 50 μ l plazmy smícháno s 1,0 ml acetonitrilu, vortexováno (prudce třepáno na mikrotřepačce) po dobu 2 minut, a pak stočeno ve 4000 rpm po dobu 15 minut, aby se protein precipitoval a extrahoval od testované sloučeniny. Potom byl acetonitrilový supernatant (extrakt obsahující testovanou sloučeninu) nalit do nových testovacích zkumavek a evaporován na horké destičce (25 °C) ve výparech plynu N_2 . Do každé zkumavky obsahující usušený extrakt testované sloučeniny bylo přidáno 125 μ l mobilní fáze (60:40, 0,025M $NH_4H_2PO_4$ + 2,5 ml/l TEA:acetonitril). Testovaná sloučenina byla resuspendována v mobilní fázi vortexováním a další protein byl odstraněn centrifugací ve 4000 rpm po dobu 5 minut. Každý vzorek byl nalit do HPLC lahvičky pro analýzu testované

sloučeniny na přístroji „Hewlett Packard 1100 series HPLC“ s UV detekcí. Z každého vzorku bylo 95 μ l injikováno na kolonu Fenomenex-Prodigy s reverzní fází C-18, 150 x 3,2 mm, a bylo eluováno gradientem 45-50% acetonitrilu po dobu 10 minut. Plazmatické koncentrace testované sloučeniny (μ g/ml) byly zjišťovány ve srovnání se standardní křivkou (oblast vrcholu proti koncentraci v pg/ml) s použitím známých koncentrací testované sloučeniny extrahované z plazmatických vzorků způsobem popsáným výše. Spolu se standardy a neznámými byly testovány tři skupiny ($n = 4$) kontroly kvality (0,25 μ g/ml, 1,5 μ g/ml, a 7,5 μ g/ml), aby se zajistila konzistentnost analýz. Standardní křivka měla $R^2 > 0,99$ a kontroly kvality byly všechny v 10 % očekávaných hodnot. Kvantifikované testované vzorky byly vyneseny do grafu pro vizuální zobrazení s použitím software Kalidagraph a jejich farmakokinetické parametry byly zjišťovány s použitím software WIN NONLIN. Příklad 1(a) poskytl následující výsledky: 0,69 (myší pK, AUC, ip, μ g-h/ml), 0,33 (myší pK, AUC, po, μ g-h/ml).

Test mikrozómů lidských jater (HLM)

Metabolismus sloučenin v mikrozómech lidských jater byl měřen postupy analytického testu LC-MS následovně. Nejdříve mikrozómy lidských jater (HLM) byly rozmrazeny a naředěny na 5 mg/ml chladným pufrem, 100mM fosfátem draselným (KPO_4). Vhodná množství KPO_4 pufru, NADPH regeneračního roztoku (obsahujícího B-NADP, glukózo-6-fosfát, glukózo-6-fosfátdehydrogenázu a $MgCl_2$) a HLM byla preinkubována ve skleněných zkumavkách 13 x 100 mm ve 37 °C po dobu 10 minut (3 zkumavky na testovanou sloučeninu - trojí opakování). Testovaná sloučenina (konečná koncentrace 5 μ M) byla přidána do každé zkumavky, aby se zahájila reakce a byla míchána mírným vortexováním, následovala inkubace ve 37 °C. V časových bodech $t = 0, 2$

hodiny, byl z každé inkubační zkumavky odstraněn vzorek 250 μ l do samostatné skleněné zkumavky 12 x 75 mm obsahující 1 ml ledově chladného acetonitrilu s 0,05 μ M reserpinem. Vzorky byly stočeny ve 4000 rpm po dobu 20 minut, aby se precipitovaly proteiny a sůl (Beckman Allegra 6KR, S/N ALK98D06, #634). Supernatant byl přenesen do nových skleněných zkumavek 12 x 75 mm a evaporován na centrifugační vakuové odparce Speed-Vac. Vzorky byly rekonstituovány ve 200 μ l směsi 0,1% mravenčí kyseliny a acetonitrilu (90/10) a vortexovány důkladně do rozpuštění. Vzorky byly pak přeneseny do samostatných polypropylenových mikrocentrifugačních zkumavek a stočeny ve 14000 x g po dobu 10 minut (Fisher Micro 14, S/N M0017580). Pro každý replikát (č. 1 až 3) v každém časovém bodu (0 a 2 hodiny) byl alikvot vzorku každé testované sloučeniny spojen do jedné HPLC viálky (6 celkových vzorků) pro analýzu LC-MS, která je popsána níže.

Vzorky spojených sloučenin byly injikovány do systému LC-MS, složeného z HPLC Hewlett-Packard HP1100 s diodovým čidlem a hmotnostního spektrometru Micromass Quattro II triple quadruple pracujícího v modu pozitivního elektrospreje SIR (programovaného tak, aby skenoval specificky molekulární ion každé testované sloučeniny). Vrchol křivky pro každou testovanou sloučeninu byl integrován v každém časovém bodě. Pro každou sloučeninu byla oblast vrcholu v každém časovém bodě ($n = 3$) zprůměrována a tato průměrná hodnota plochy vrcholu ve 2 hodinách byla dělena průměrnou plochou vrcholu v čase 0 hodin, aby se získalo procento testované sloučeniny zůstávající ve 2 hodinách.

Výsledky testování sloučenin s použitím různých testů jsou shrnuty v tabulce níže, kde označení „% @“ ukazuje procento inhibice v uvedené koncentraci, „*“ hodnoty představují K_i (nM) nebo % inhibice při koncentraci sloučeniny 1 μ M pro * nebo

50 nM pro **, není-li uvedeno jinak. „NI“ označuje nevýznamnou inhibici.

Tabulka 1

Př.č.	FLVK **	FLVK -P**	Lck- P*	CHK -1*	FGF- P*	CDK2 *	CDK4 *	HUVEC IC50 (nM)	HUVEC + albumi n IC50 (nM)	MV522 IC50 (μM)	% zbytku (HLM 2 hod)
2(b)	300	425		549	228 μM	2 200	8 000				
2(c)	2600					50 μM	26 μM				
1(a)	0,3	2	88	5,2	27	19	13	54		0,35	98
3	6,6	65	37%	4,8	112	16	23	930		2,2	
8(a)	3,2	23	43%	530	42	>100 μM	>100 μM	>1000		>10	
8(b)	72			12% @ 50 μM							
2(d)	3,7		43%	91	68	53	53	450		0,18	
1(c)	1,4	4,7	46%	78		560	670	>1000		>10	
2(a)	40			61% @ 20 μM		610	1600	>1000		0,58	
1(b)	2,2			1400		4000	1300	>1000		>10	
8(c)	2,6	16	34%	>10 000		>100 μM	>100 μM	280		>10	
9(a)	2,4	16	162	400			1700	870		>10	
9(b)	24			448							
2(e)	40			5% @ 20 μM							
10	9			9100				>700		>10	
20(a)	29	12,7						200		9,4	52
20(b)	1,6	8	23%		28%			8,2		Ca.10	
14	15			12% @ 25 μM							
7	18			1.300							
17	11			532							
8(d)	11			82 000							
4(a)	0,65	1,4	68%	NI	15,4	NI	19%	3	30	6,3	35
23	1,6	2,1	12%	NI	14%	NI	17%	9,5	106	5,7	74
21	4,6							>700			
11	12				34,000						
22(b)	0,63	1,2			21,5			4,8		8,5	
22(a)	0,22	0,2						12		>10	
22(c)	0,64							38			
4(b)	2,7	1,9	13% @ 1 μM		4,9			25	205	3,2	63
12(a)	1,8	6,9	17%		19			6	87	2,1	59

12(b)	0,48	1,8	32%		31			4,8	44	>10	29
18	12,5										
19(b)	0,49	6,6	58%	NI	60%	NI	11%	2,9	27	4,3	137
19(a)	13,8	6,8	16% @ 1 μM		92%			44			
19(c)		5,9	50%		68%			17			
12(c)	1,6										
19(d)	0,72		33%		39%			6,8	34	>10	36
5(a)	0,03		28%		10,4			12		9,6	
12(d)	0,39		31%		61%			8,1		>10	51
13	1,3		61%		74%			3,9	28	>10	69
15		15									
16(a)	0,08		28%	NI	65%	NI	NI	4,5	112	8	7*
6(a)	0,74		33%		67%			8,5	50	3,5	69*
5(b)	0,9		78%		14			3,7	33	8,5	
16(b)	0,34		22%		73%			4,7	140	>10	50
16(c)		1,1						100- 1000		>10	
16(d)	0,43		33%		90%			11		>10	
16(e)	1,3		8%		59%			4,9	106	>10	40
6(b)		0,15	81%		95%			8	60	4	128
16(f)		2,8						>30		>10	
19(e)		20						>300			
30(a)	1,7		45%		94%			1,6	22	5,7	64
19(f)	0,18		52%		58%			2,3	16	3,9	98
46		3,5									
19(g)											
30(b)		2,2						90			
19(g)	0,86		19%		59%			18	1920		90
30(c)	0,83		44%		82%			2,5	21		54
19(h)		5,9						600		7,9	
44		9,6						>700			
38(a)	0,22		77%		74%			4,5-	20	10,7	72
45(b)	99%		86%		79%			1,9	11,5	4,4	97
45(a)	0,062							3,1	ca. 15	3,5	97
19(i)		4,7						>300			
42(a)	0,046	79%	53		65			0,8	8	5,5	92
38(b)		72%						79			
19(j)	0,33		23%		44%			2,2	50	>10	66
42(b)	0,35		75%		27%			2,1	29	2,1	81
19(k)	100%		37%		41%			2,6	28	4	58
33(b)	0,66	76%	63%		77%			0,8	11,5	15	45
26		1,1		6,6	3,2						
19(l)	0,72		36%		88%			6,8	100	3,8	

19(m)	0,68		35%		23%				94	>10	61
33(a)	3,8	42%	9%	0	56	2%	7%	0,5	2,7	>10	29
19(n)	0,54		26%		48%			3,4	23	2.9	
33(c)	0,28		26%		76%				6,6	>10	16
33(d)	0,14		55%		24				>300	8	22
40(a)		17,9									
41(aa)	0,11		49%		37%			1	5,2	>10	100
41(b)	0,26		24%		31%			2	9,8	>10	80 (UV)
42(e)	1,1								95		
42(d)	1,7								44	>10	
43	2,6	56%							24		2
19(o)	89%								20		
41(c)	0,22	83%	36%		77%			0,4	5,3		68
41(d)	0,093							0,9	6,4		
41(a)	0,03	94%	50%	0	20	0	6%	0,48	4,4	>10	96
19(p)	1,5										
41(e)	0,22		21%		31%			0,15	5,6, 6,1		22
41(f)	0,11	84%	65%		92%			0,45	20		59
41(g)	0,1		36%		95%			0,9	>10		52
30(d)	0,37								3,8		
30(e)	0,37		62%		92%				29		
33(e)	1,7	70%	2%		68%			0,46	5	>10	54
33(f)	8								17		31
41(h)	90%		30%					2	25		8
47	0,25		50%		88%						
31(a)	0,29		77%*		95%			0,7	10		58
41(l)	0,04		38%*		76%			0,25	3,3		48
35(u)	79%								2,8		27
32(a)	<0,1		86%*		96%			0,16	4,5		2
41(k)	2,95		20%		49%				48		
41(l)	0,24		63%*		66%				386		
41(m)	0,75		40%		67%				23		0
41(n)	0,2		66%*		87%				28		70
31(b)	<0,1		66%		97%				5,6		2
41(o)	0,05		77%		74%				10		94
31(c)	<0,1		81%		98%				11,4		87
35(gg)	23%								>100		
33(g)	15%										
34	97%		78%		95%				15		28
50											
35(v)	72%		11%		59%				22		26

35(w)	59%							35		
35(x)	75%							2		37
35(a)	76%	12%		59%				2,1		33
35(b)	49%	12%		59%				35		
35(c)	76%	11%		42%				6,3		17
41(p)	0,06	49%	0	90	6%	3%	0,27	2,6	>10	62
42(c)	95%							1 to 3		
41(dd)	98%	50%		69%				5,8		7
41(bb)	99%	76%		88%				1 to 3		110
35(y)	99%	29%		82%				1 to 3		7
35(d)	76%							>100		
31(d)	96%	52%	0	14	5%	9%	1,3	ca. 13	5,2	110
41(q)	100%	53%		91%				2,7		
35(e)	99%	56%		69%				4,8	>10	34
35(f)	100%							8		15
35(g)	100%							ca. 15		53
35(h)	100%							3,6		9
35(i)	100%							4,7		
35(j)	99%							1,5		5
35(k)	85%	6%	0	34%	8%	7%		2,2	>10	14
41(ee)	0,13	13%	0	94%	0	2%	0,24	4,3, 2,7	9,4	47
35(z)	95%							7,1		2
35(aa)	99%							5		15
41(r)	100 %	55%	0	92%	0	5%		11		83
41(cc)	97%	41%		95%				>100		
35(l)	90%							12		
35(cc)	89%	15%	0	74%	5%	6%	0,05	1,6		31
35(ee)	82%							3		13
35(ff)	0,11	25%		75%				5,8		31
35(dd)	0,6	17%	0	75	7%	8%	0,18	2,9	>10	26
35(bb)	87%							4,1		8
32(b)	0,08	70%		95%				21	>10	
35(hh)	100%	34%		73%				7		
35(m)	0,04	61%		82%				35		
48(a)	0,37	13%	0	14	0	0		8,8		55
39(a)	53%						1,4	ca. 50		70
35(n)	0,83	58%	23%	92	4%	10%	0,11	11	5,1	47
41(s)	0,23	53%		86%						

35(o)	39%		17%		44%				>100		
41(t)	0,06		51%	0	85%	1%	2%		3,8		87
32(c)	0,27		52%		96%				>30		
36(b)	85%		22%		43%				>30		
37(d)	26%		10%		38%				>100		
37(c)	83%		12%		39%				12		21
37(b)	48%		8%		36%				30- 100		
59(a)											
41(u)	0,08		54%		74%				7,9		
41(hh)	98%		13%		74%				3,9		72
36(c)	89%		28%		60%				>30		
36(a)	87%		19%		38%				19		58
35(p)	62%		5%		11%				>30		
35(q)	92%		42%		51%				18		
40(b)	89%		32%		92%						
41(ff)	98%		15%		12				5,6		68
37(a)	57%		6%		35%				15		21
41(v)	68% *		52%		68%				12		
41(II)	57%		18%		11				13		85
35(r)	0,11		16%		20			0,36	2,3	>10	51
35(s)	60% *		18%		64%				4,6		16
35(t)	59% *		12%		63%				4		7
41(II)	95%		14%		91%				23		
41(w)	97%		49%		67%				ca. 10		
41(x)	98%		66%		3,4				4,6		100
41(mm)	93%		6%		46%			1,3	14,4		94
41(jj)	87%		19%		81%				21		
41(y)	98%		61%		86%				30- 100		
31(e)	0,02		43%		62%				6,2	8,6	49
40(c)	24%		28%		59%						
41(gg)	84%		27%		3,5				9,5		50
41(nn)	57%		7%		91%				>100		
41(j)	98%		16%		41%				7,7		
48(b)	97%		6%		77%				ca. 8		
41(z)	100%		54%		74%				7,5		
41(kk)	100%		26%		97%				16		63
39(b)	2,8		10%		50%				>10		67
31(f)	97%		62%		99%				>10		

59(b)										
49(a)	0.04		11%		79				ca. 4	8,4
59(c)										
49(b)	98%		9%		80%				ca. 10	
56	5%									
35(ii)	44%									
59(d)										
57	100%		30%		89%					
59(e)										
58	98%		19%		98%					

Tabulka 2

Příkl. č.	CDK2*	CDK4*	CHK1*	FLVK-P*	Lck*	FGF*	HCT-116 IC50 (μ M)
24(a)	0,017	0,0051	0,028	0,0983	67%	72%	0,23
24(b)	0,021	0,0032	0,02	0,0331	96%	88%	0,37
24(c)	0,0034	0,0015	0,044	0,0142	93%	89%	0,44
24(m)	17%	16%	NI @ 20 μ M				
24(l)	0,086	0,071	62% @ 20 μ M				3,8
24(d)	0,083	0,017	0,056	0,125	51%	66%	0,023
24(e)	0,03	0,0044	75%	52%			0,15
24(f)	0,0072	0,0074	97%	89%			1,5
24(g)	0,13	0,029	1,67	0,194			> 5
24(o)	0,029	0,2					2,2
24(h)	0,054	0,053					3,6
24(i)	0,055	0,013					1,7
24(j)	2,1	0,32					
24(k)	0,056	0,0072	81%		89%	0,16	0,2
25(a)	0,08	0,021	49%		44%	62%	0,051
24(n)	0,035	0,019					1,5
25(b)	0,112	0,048	83%		87%	87%	2,1
25(c)	0,233	0,0155	90%			96%	0,25
25(d)	0,16	0,098	87%		60%	80%	
25(e)	0,477	0,181	16%		13%	26%	
25(f)	0,39	1	NI		58%	56%	0,098
25(g)	0,08	0,021	21%		76%	82%	2
25(h)	0,17	0,024	86%		87	91	0,32

25(l)	0,021	0,02					>5
24(p)	0,089	0,092					0,44
25(j)	0,079	0,016				70	0,0083

* hodnoty představují K_i (μM) nebo % inhibice při koncentraci sloučeniny 1 μM , není-li uvedeno jinak. NI označuje nevýznamnou inhibici

Tabulka 3

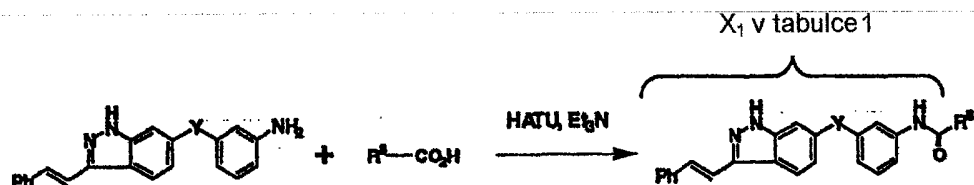
Příklad č.	CHK-1*	CDK1*	CDK2*	CDK4*	FLVK*
28(d)	0,018	93%	66%	87%	
27(j)	15% @ 50 μM				
27(a)	0,198	NI @ 1 μM	NI @ 100 μM	28% @ 5 μM	71%
27(b)	28% @ 50 μM				
28(a)	0,108	77%	75%	79%	84%
27(c)	11% @ 5 μM				
28(b)	0,0143		97%	98%	96%
27(d)	14% @ 10 μM				
27(e)	0,757				34%
27(l)	0,227	85%	73%	92%	
27(f)	0,35	0,223	3,3	0,78	49%
27(h)	0,311	84%			
27(k)	24				
28(c)	1,14				34%
27(g)	0,85				
52(b)	0,08	0,041	0,241	0,117	94%

55	10				
52(a)	0,263	39%			60%
53(a)	0,301	24	13% @ 5 μM	28% @ 5 μM	
29(b)	0,138	0,9	3	3,9	
29(a)	NI @ 25 μM				
29(c)	0,174	56%	2,2	2	
29(d)	10				
29(e)	0,074	0,593	1,4	2	33%
29(f)	0,418				
51	0,087	0,146	84%	79%	
29(r)	0,072	0,066	1,3	1,1	
29(g)	0,068	0,39	1,4	1,1	
29(h)	0,14	1,3	3	2,2	
54(d)	0,68	NI @ 1 μM			
54(b)	3,1				
29(i)	0,104	26%	3,1	5	
53(d)	NI @ 100 μM				
54(e)	0,342	NI @ 1 μM			
54(a)	0,896	1%			
53(c)	1,1				
29(j)	0,533	31%			
29(q)	11				11%
29(p)	0,232	6%			
53(b)	1,4				
29(k)	1,3				
54(f)	2,9				
54(c)	0,125	NI			
54(g)	0,195	3%			
29(o)	46				
53(e)	0,886	13%			
29(l)	1,4	7%			
29(n)	16				

29(m)	1	54%			
53(f)	7,3				
54(h)	1				
29(s)	11				
54(i)	0,424				
54(l)	0,461				
29(t)	0,072				
29(u)	0,151				
53(g)	1,5				
54(j)	0,99				
54(k)					

* hodnoty představují K_i (μM) nebo % inhibice při koncentraci sloučeniny $1 \mu\text{M}$, není-li uvedeno jinak. NI označuje nevýznamnou inhibici

Příklad knihovny I



Tři stavební bloky knihovny („aminové templáty“) 6-(3-aminofenoxy)-3-E-styryl-1H-indazol ($Y=O$), 6-(3-aminobenzoyl)-3-E-styryl-1H-indazol ($Y = CO$) a 6-(3-aminofenyl)amino-3-E-styryl-1H-indazol ($Y = NH$) byly připraveny, jak bylo popsáno v příkladu 7, příkladu 18 a příkladu 46, v daném pořadí. $0,1\text{M}$ roztoky kyselin, aminového templátu, o-(7-azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetra-methyluroniumhexafluorofosfátu a triethylaminu byly připraveny odděleně v bezvodém DMF. Do každé zkušavky v seskupení 8×11 kultivačních zkušavek ($10 \times 75 \text{ mm}$) bylo přidáno $105 \mu\text{L}$ ($0,0105 \text{ mmol}$) odlišné kyseliny. K tomu

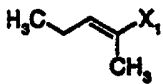
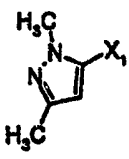
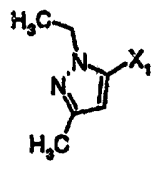
bylo přidáno 100 μ l (0,01 mmol) roztoku aminu, 105 μ l (0,0105 mmol) roztoku triethylaminu, následováno 105 μ l (0,0105 mmol) roztoku o-(7-azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetra-methyl-uroniumhexafluorofosfátu. Reakce byly míchány ve vyhřívaném bloku v 50 °C po dobu 3 hodin. Reakční směsi byly přeneseny na 1 ml 96 jamkové destičky s použitím multipipety. Rozpouštědla byla odstraněna s použitím přístroje SpeedVacTM a hrubé reakční směsi byly opět rozpouštěny v DMSO za vzniku konečné teoretické koncentrace 10 mM.

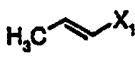
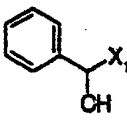
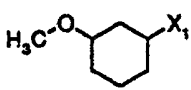
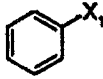
Sloučeniny v tabulce byly testovány na inhibici proliferace HUVEC v nominální koncentraci 10 nM a výsledky jsou uvedeny v tabulce I níže, vypočtené ze vzorce:

$$\% \text{ inhibice} = (\text{kontrola} - \text{ošetřeno}) / (\text{kontrola} - \text{hladovění}) \times 100$$

V těchto testovacích podmínkách je >50% inhibice považována za významnou.

Tabulka knihovny I

R'	Y = CO	Y = O	Y = NH
	134	127	135
	124	145	118
	128	94	115

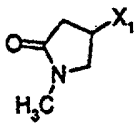
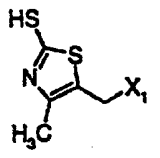
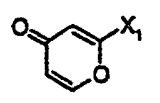
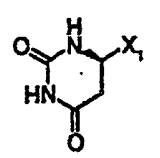
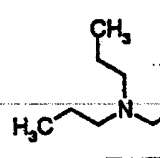
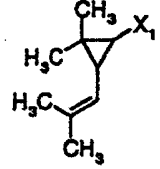
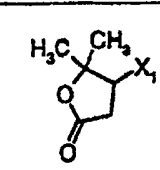
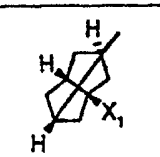
R'	Y = CO	Y = O	Y = NH
	134	138	112
	3	56	111
	30	91	109
	101	157	105

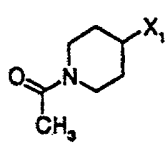
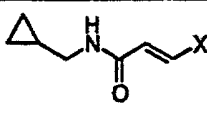
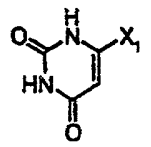
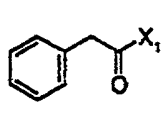
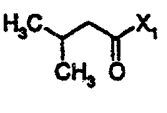
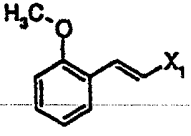
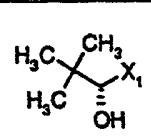
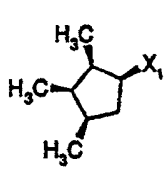
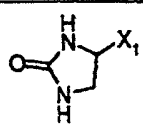
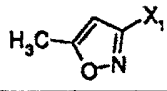
	-62	5	105
	108	115	104
	124	147	103
	125	124	103
	158	131	101
	142	101	98
	137	137	95
	131	68	94
	58	68	94
	75	78	87

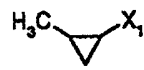
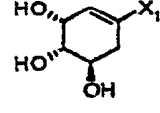
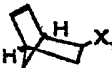
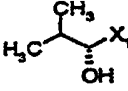
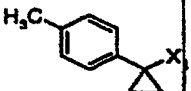
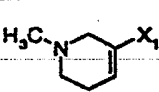
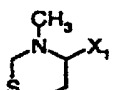
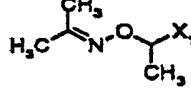
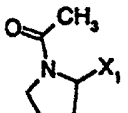
	113	150	86
	72	87	85
	128	92	81
	113	30	80
	51	35	79
	125	122	78
	87	80	77
	26	52	76
	99	52	75

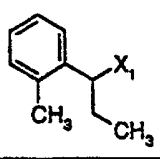
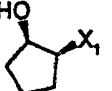
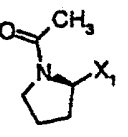
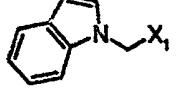
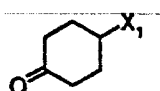
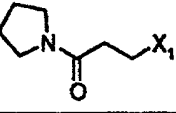
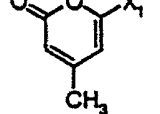
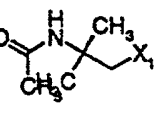
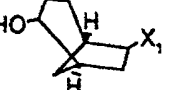
	54	85	71
	80	91	64
	71	52	60
	21	76	43
	81	93	40
	87	86	34
	25	70	32
	2	52	30
	24	96	30
	35	64	30

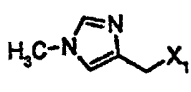
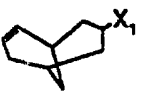
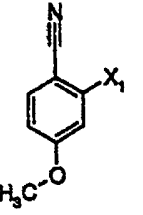
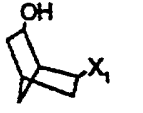
	37	48	30
	57	70	29
	52	42	27
	47	69	25
	51	71	25
	35	57	24
	18	51	23
	45	57	23
	19	22	20
	32	32	20

	10	24	20
	24	45	19
	-13	18	17
	-36	-6	17
	-2	25	17
	3	24	16
	5	25	16
	-1	30	15

	33	42	13
	3	36	13
	14	90	12
	-37	25	11
	81	64	11
	47	17	10
	27	30	10
	5	23	7
	21	40	7
	50	112	6

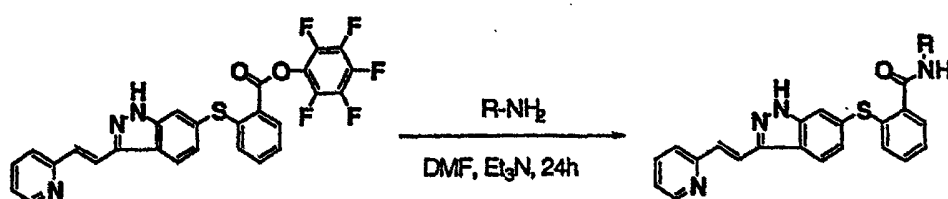
	96	134	6
	42	13	6
	-20	25	6
	44	82	5
	33	32	3
	0	4	2
	20	43	0
	8	23	0
	28	80	-1
	10	19	-2
	12	40	-3

	3	46	-3
	39		-4
	37	20	-5
	-11	52	-7
	10	59	-7
	27	48	-8
	64	83	-8
	35	42	-9
	27	52	-9

	31	20	-17
	56	17	-17
	-20	18	-18
	64	38	-20

Příklad knihovny II

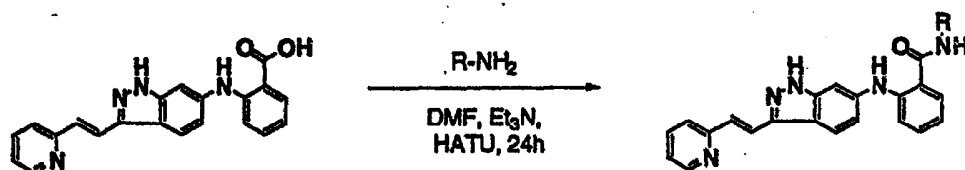
(a) když Y = S ve vzorci I



6-[2-(pentafluorofenoxykarbonyl)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazol (Y = S) byl připraven, jak bylo popsáno v příkladu 35(a). 1,5 μ mol roztoky 261 aminů a 0,1393 μ l (1,0 μ mol) Et_3N , rozpuštěné v 15 μ l DMF, byly rozděleny do jamek 96 jamkové destičky. V případech, kde byl amin použit jako hydrochlorid, bylo přidáno dalších 0,4179 μ l

(3,0 μmol) Et_3N k uvolnění volné báze. Každá jamka byla podrobena působení roztoku 0,5395 mg (1,0 μmol) pentafluorfenylesteru (rozpuštěného ve 30 μl DMF, a pak byla destička třepána po dobu 24 hodin při teplotě místnosti. Surové reakční směsi byly koncentrovány s použitím přístroje GeneVacTM, a pak naředěny DMSO na konečnou koncentraci 10 mM.

(b) když $Y = \text{NH}$ ve vzorci I



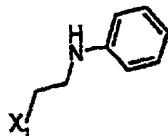
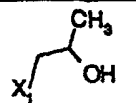
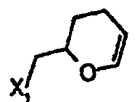
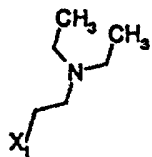
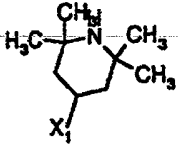
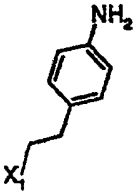
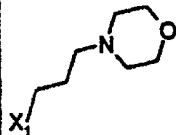
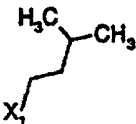
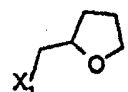
2,0 μmol roztoků 263 aminů a 0,4181 μl (3,0 μmol) Et_3N bylo rozpuštěno ve 20 μl DMF a rozděleno do jamek 96 jamkové destičky. V případech, kde byl amin použit jako hydrochlorid, bylo přidáno dalších 0,5575 μl (4,0 μmol) Et_3N k uvolnění volné báze. Každá jamka byla podrobena působení roztoku 0,447 mg (0,75 μmol) 6-[2-karboxyfenylamino]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)-ethenyl]-1H-indazolu rozpuštěného ve 20 μl DMF, následováno 0,570 mg (1,5 μmol) roztoku HATU rozpuštěného v 10 μl DMF, a pak byla destička třepána po dobu 72 hodin při teplotě místnosti. Hrubé reakční směsi byly koncentrovány s použitím přístroje GeneVacTM, a pak naředěny DMSO na konečnou koncentraci 10 mM.

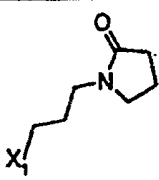
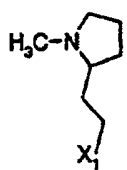
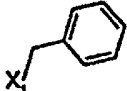
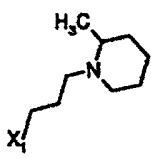
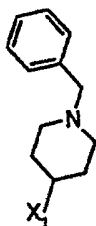
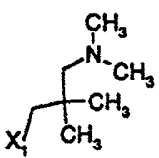
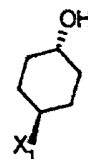
Sloučeniny v tabulce byly testovány na inhibici proliferace HUVEC v nominální koncentraci 0,5 a 2 nM pro $Y = \text{S}$ a výsledky jsou uvedeny níže, jak byly vypočteny ze vzorce:

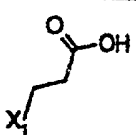
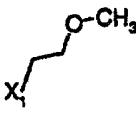
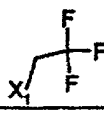
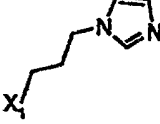
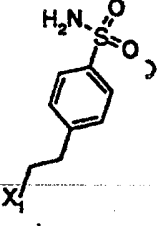
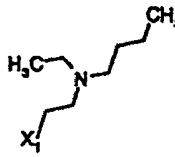
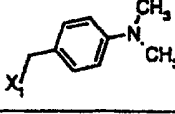
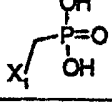
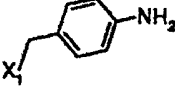
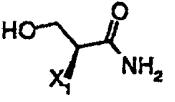
$$\% \text{ inhibice} = (\text{kontrola} - \text{ošetřeno}) / (\text{kontrola} - \text{hladovění}) \times 100$$

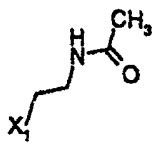
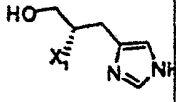
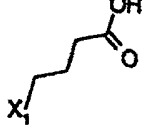
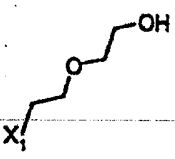
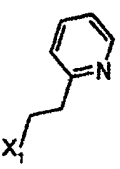
V těchto testovacích podmínkách je >50% inhibice považována za významnou.

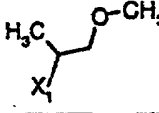
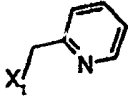
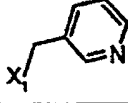
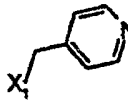
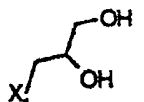
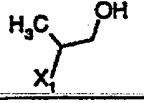
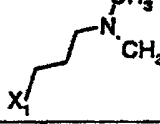
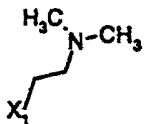
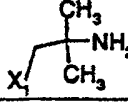
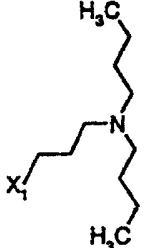
Tabulka knihovny II

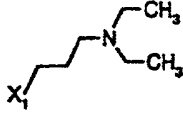
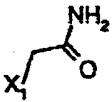
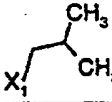
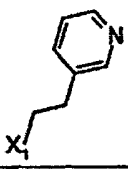
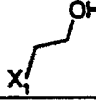
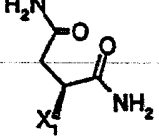
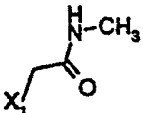
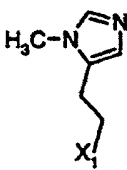
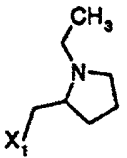
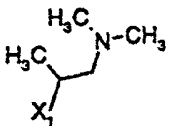
R'	0.5 nM	2 nM
	19	89
	38	2
	37	16
	39	15
	35	10
	32	31
	5	14
	14	55
	23	44

	25	35
	30	23
	5	19
	70	105
	25	15
	44	19
	38	5
	23	6

	4	20
	21	60
	34	61
	23	23
	26	37
	2	6
	32	24
	32	6
	48	8
	45	88
	17	4

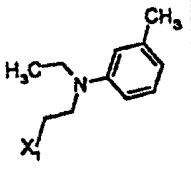
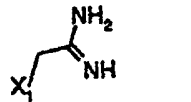
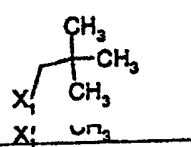
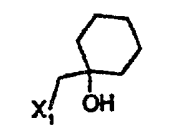
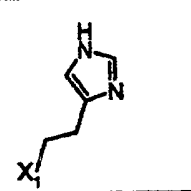
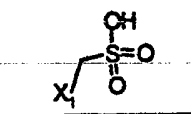
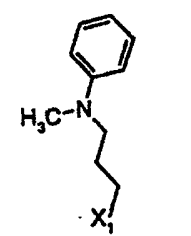
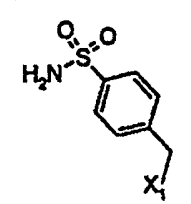
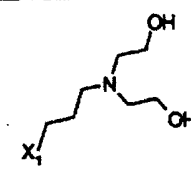
	8	21
	15	27
	22	24
	22	23
	16	20
	10	24
	28	22
	37	12
	49	91
	40	31

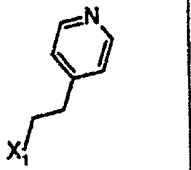
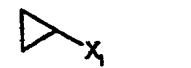
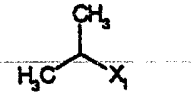
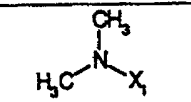
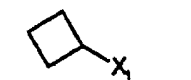
	18	32
	6	43
	30	78
	34	58
	22	20
	19	28
	6	1
	20	10
	31	3
	32	10

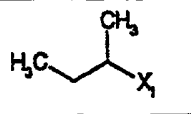
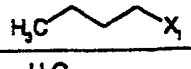
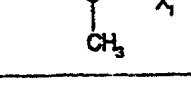
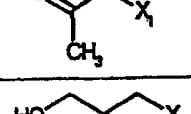
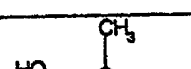
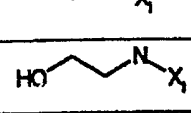
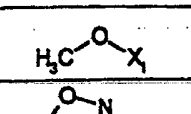
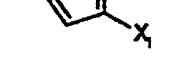
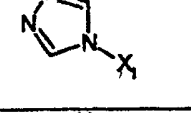
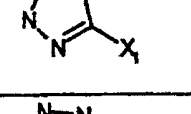
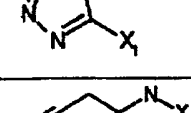
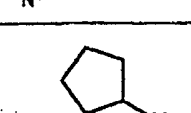
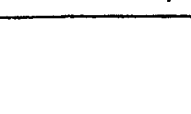
	31	-1
	6	4
	4	29
	23	61
	18	24
	21	15
	-1	26
	-6	0
	18	5
	23	17

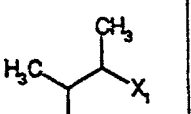
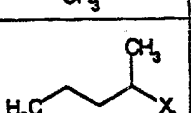
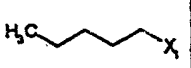
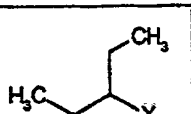
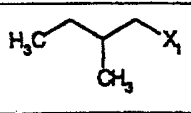
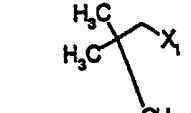
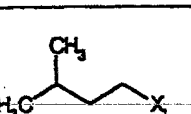
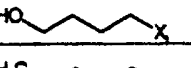
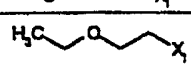
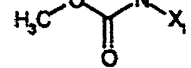
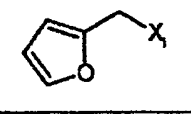
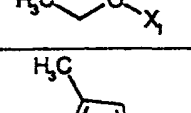
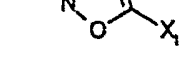
	20	2
	37	15
	0	4
	5	1
	8	18
	3	15
	23	16
	42	22
	-9	1

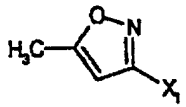
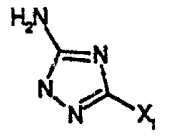
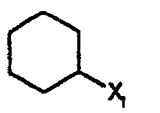
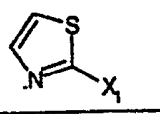
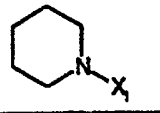
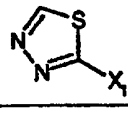
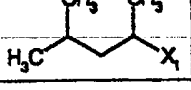
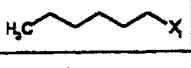
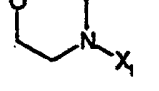
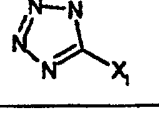
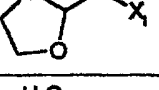
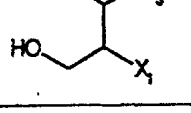
	25	-5
	16	7
	27	2
	49	-9
	18	40
	5	9
	8	23
	16	21
	13	23
	8	22
	2	-19

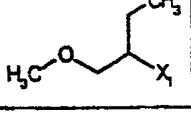
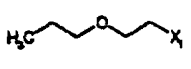
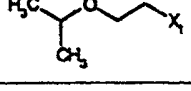
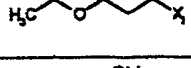
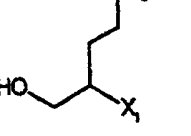
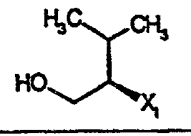
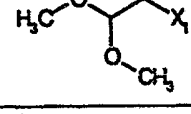
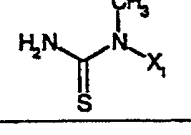
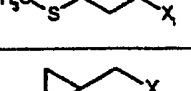
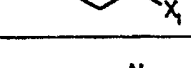
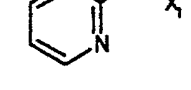
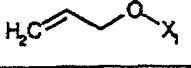
	17	1
	7	-1
	5	-6
	26	-19
	23	-32
	2	-3
	18	25
	1	13
	4	4

	18	22
H-X1	9	30
HO-X1	7	25
H3C-CH2-X1	16	17
H3C-N(X1)-X1	13	31
HC≡C-CH2-X1	95	106
	59	97
H2C=CH-CH2-X1	30	86
	22	43
H3C-CH2-CH2-X1	33	64
O=CH-N(X1)-X1	28	29
	31	20
	42	80
	25	53
H3C-C(=CH2)-CH2-X1	65	110

	29	58
	52	107
	31	36
	4	10
	8	23
	13	20
	33	18
	20	25
	62	99
	6	16
	17	13
	19	22
	39	18
	44	5
	43	96

	19	55
	29	92
	49	109
	25	14
	24	84
	19	24
	47	107
	35	40
	26	31
	53	75
	8	21
	70	112
	72	109
	26	31

	28	14
	-6	41
	12	76
	33	94
	27	17
	44	28
	55	50
	21	90
	12	53
	21	64
	35	63
	21	-5

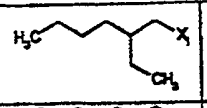
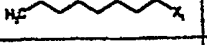
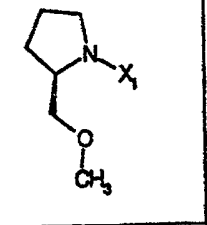
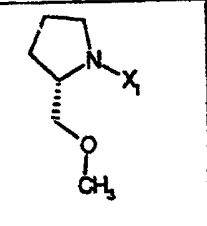
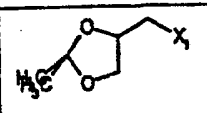
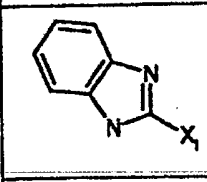
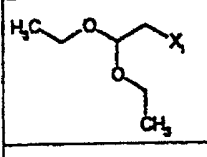
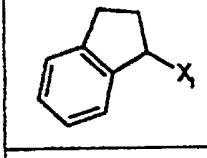
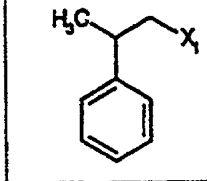
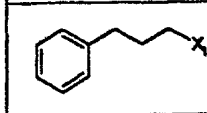
	1	65
	28	103
	51	105
	44	97
	44	40
	47	-4
	47	89
	12	29
	44	100
	35	69
	16	2
	32	92
	92	103

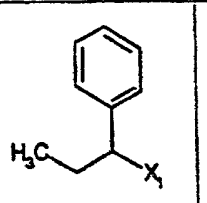
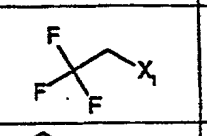
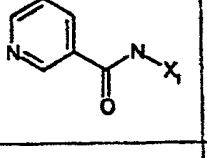
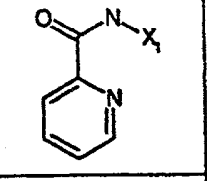
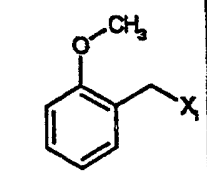
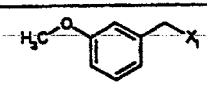
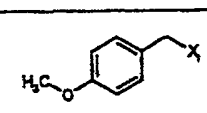
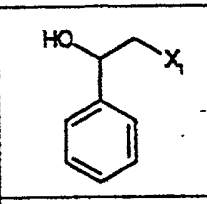
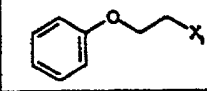
	9	1
	56	96
	26	2
	39	13
	19	5
	24	31
	35	106
	15	36
	69	59
	-11	42
	16	42

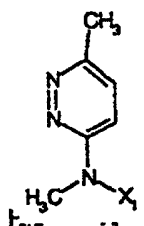
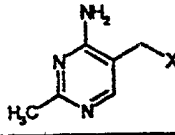
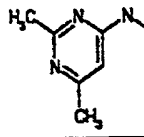
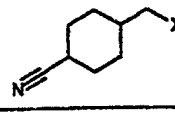
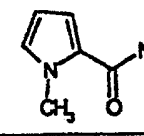
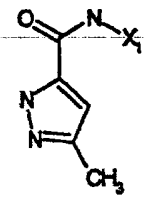
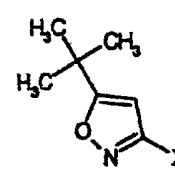
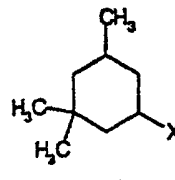
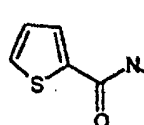
	15	95
	20	92
	19	-1
	31	30
	-1	14
	9	34
	6	44
	1	52
	18	-2
	9	-9
	40	94

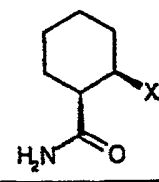
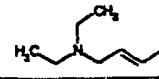
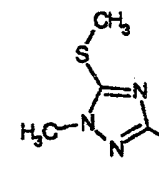
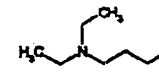
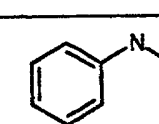
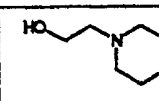
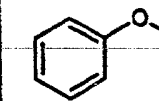
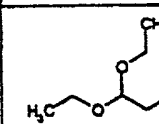
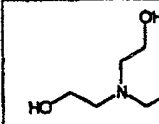
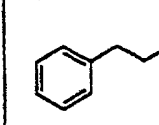
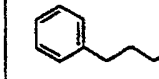
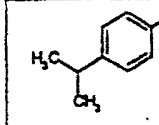
	38	68
	25	40
	34	99
	30	94
	24	99
	19	101
	20	92
	15	99
	16	37
	17	23
	70	111

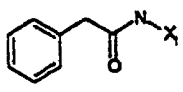
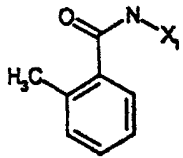
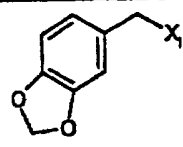
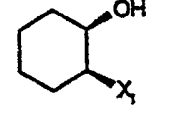
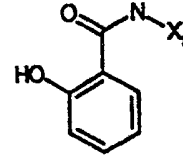
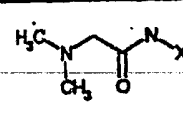
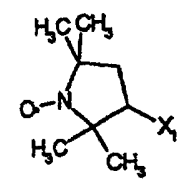
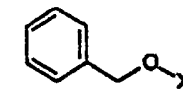
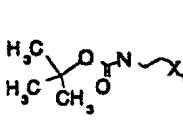
	60	99
	75	114
	81	95
	24	86
	-3	64
	26	71
	14	60
	51	108
	8	37
	15	23
	20	32
	35	63

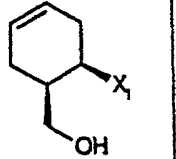
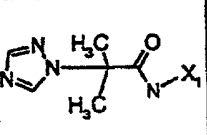
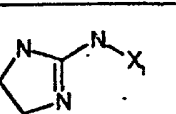
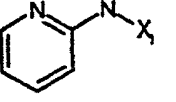
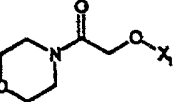
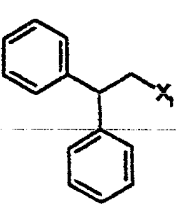
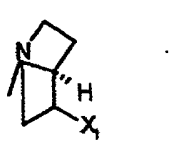
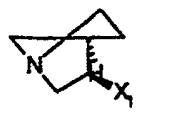
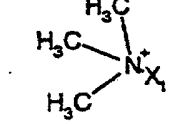
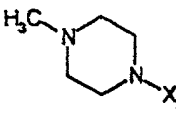
	28	47
	26	16
	18	11
	13	7
	28	69
	18	43
	11	47
	19	86
	26	83
	50	111

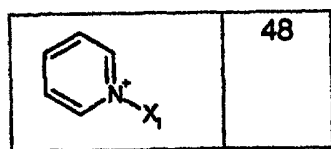
	45	103
	53	95
	31	108
	69	104
	36	106
	58	100
	63	104
	12	55
	16	73

	18	-3
	16	17
	32	35
	36	66
	68	49
	26	39
	15	4
	25	31
	65	90

	21	39
	10	29
	16	2
	22	36
	18	29
	25	25
	27	80
	30	70
	10	23
	50	40
	51	67
	23	51

	31	66
	86	107
	46	103
	26	59
	30	61
	41	16
	15	8
	74	101
	78	60

	58	37
	34	90
	34	69
	19	35
	15	-1
	11	15
	15	-9
	12	
	8	
	38	



Příklad knihovny III



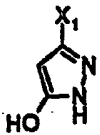
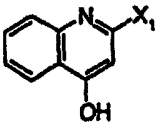
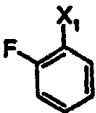
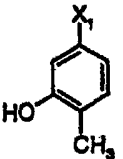
0,1M roztoky aminů, triethylaminu a 4-dimethylamino-pyridinu byly připraveny odděleně v bezvodém DMF a přeneseny do bezpečnostního boxu. 0,1M roztok 6-[2-(karboxy)fenylsulfanyl]-3-E-[2-(pyridin-2-yl)ethenyl]-1H-indazolu, příklad 33(g), tetrabutylamonná sůl a o-(7-azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetra-methyluroniumhexafluor-fosfát byly připraveny v bezpečnostním boxu. Do každé zkumavky v seskupení 8x11 kultivačních zkumavek (10x75 mm) v bezpečnostním boxu bylo přidáno 100 μ l (0,01 mmol) odlišných roztoků aminu, následováno přidáním roztoku 100 μ l (0,01 mmol) tetrabutylamonium-2-{3-[(E)-2-(2-pyridinyl)ethylyl]-1H-indazol-6-yl}sulfanyl)benzoátu, roztoku 100 μ l (0,01 mmol) triethylaminu, roztoku 100 μ l (0,01 mmol) 4-dimethylamino-pyridinu a roztoku 100 μ l (0,01 mmol) o-(7-azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetra-methyluroniumhexafluorfosfátu. Reakce byly míchány ve vyhřívaném bloku v 50 °C po dobu 1 hodiny. Reakce reakční směsi byly přeneseny na 1 ml 96 jamkové destičky s použitím multipipety. Rozpouštědla byla odstraněna s použitím přístroje SpeedVacTM a hrubé reakční směsi byly opět rozpuštěny v DMSO za vzniku konečné teoretické koncentrace 10 mM.

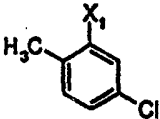
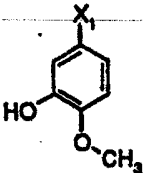
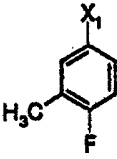
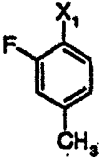
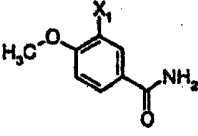
Sloučeniny v tabulce byly testovány na inhibici proliferace HUVEC v nominální koncentraci 0,5 nM a výsledky jsou uvedeny v tabulce III níže, jak byly vypočteny ze vzorce:

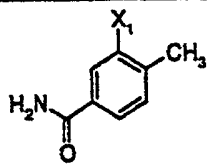
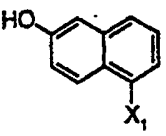
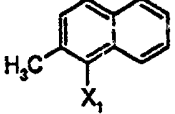
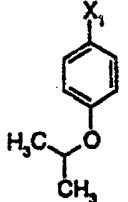
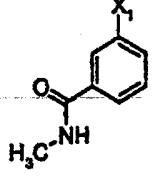
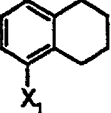
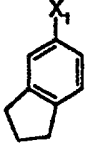
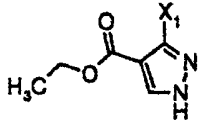
$$\% \text{ inhibice} = (\text{kontrola} - \text{ošetřeno}) / (\text{kontrola} - \text{hladovění}) \times 100$$

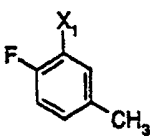
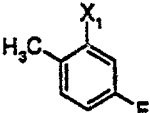
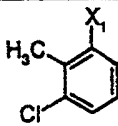
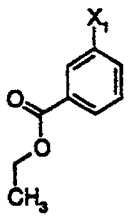
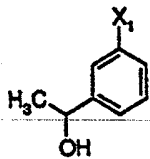
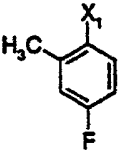
V těchto testovacích podmínkách je >30% inhibice považována za významnou.

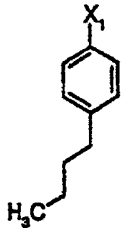
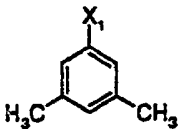
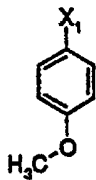
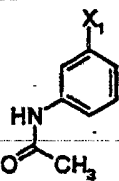
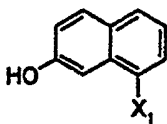
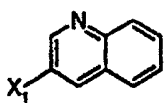
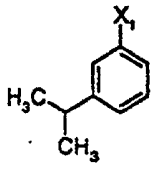
Tabulka knihovny III

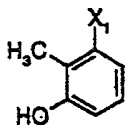
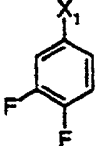
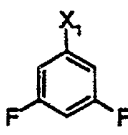
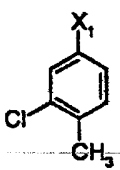
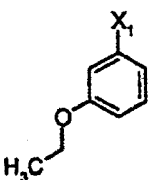
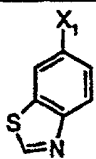
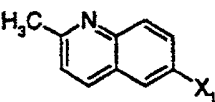
R	% inhibice
	-1
	-17
	4
	17
	6

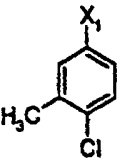
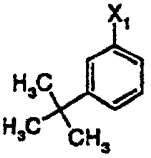
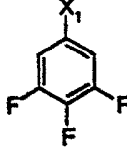
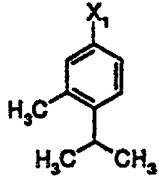
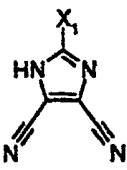
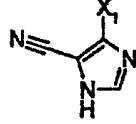
R	% inhibice
	22
	-19
	9
	2
	5

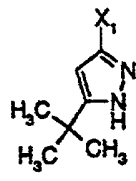
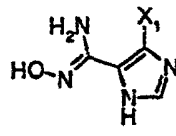
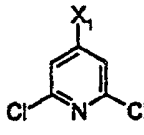
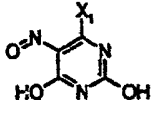
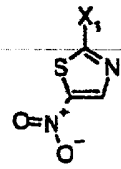
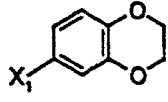
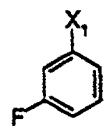
	15
	-22
	-19
	-9
	-11
	-17
	-6
	-11

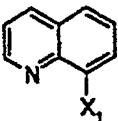
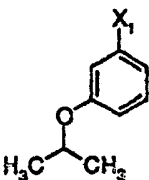
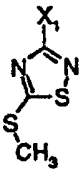
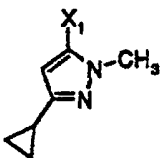
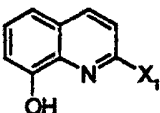
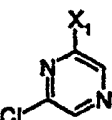
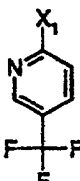
	-1
	12
	9
	7
	-32
	-22
	-15

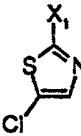
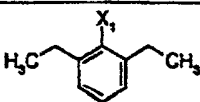
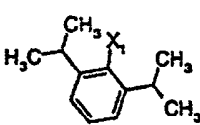
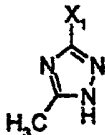
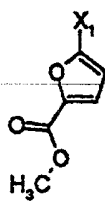
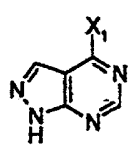
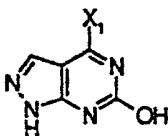
	-22
	-4
	4
	-29
	-6
	-8
	8

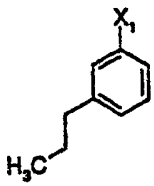
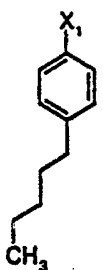
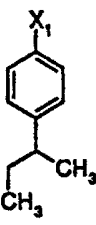
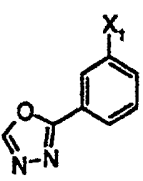
	1
	-38
	-36
	-11
	-14
	-20
	-5

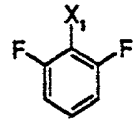
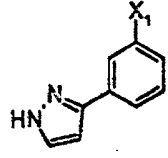
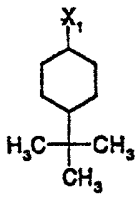
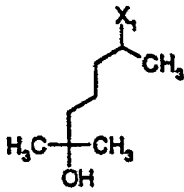
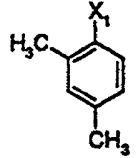
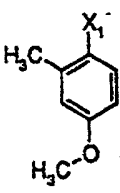
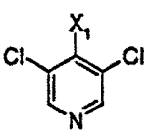
	-43
	-5
	0
	6
	0
	-28
	-13

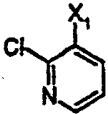
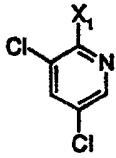
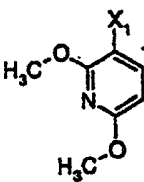
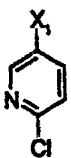
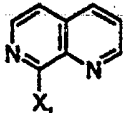
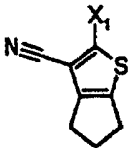
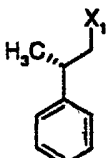
	-21
	-15
	0
	-18
	-15
	-1
	-11

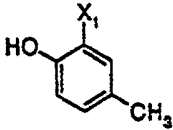
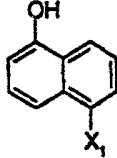
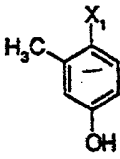
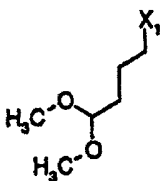
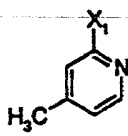
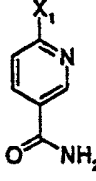
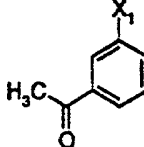
	3
	1
	-27
	-47
	33
	17
	20

	-29
	-17
	-7
	0
	-1
	4
	-43

	-42
	22
	13
	81
	-23

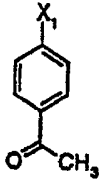
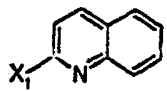
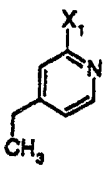
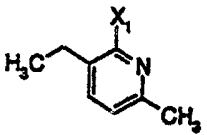
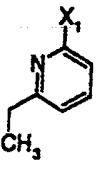
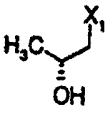
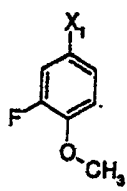
	-31
	-3
	0
	3
	13
	0
	-113

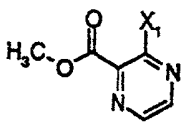
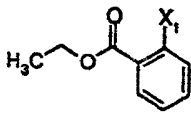
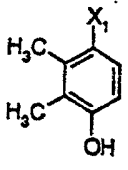
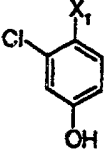
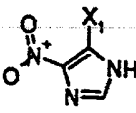
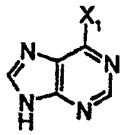
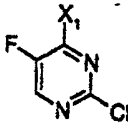
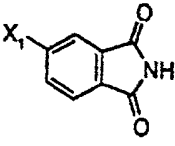
	2
	4
	20
	2
	-3
	-9
	-9

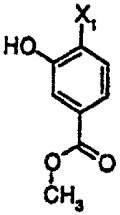
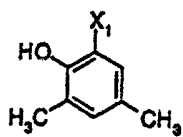
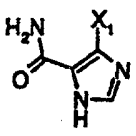
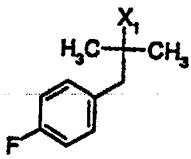
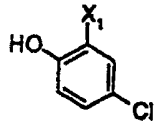
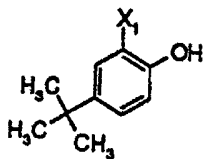
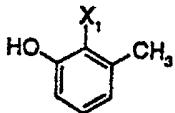
	-1
	4
	12
	9
	-6
	-2
	5

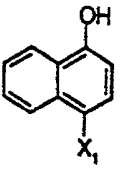
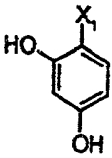
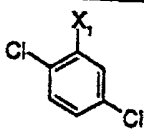
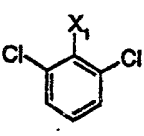
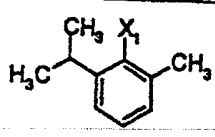
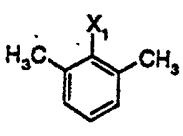
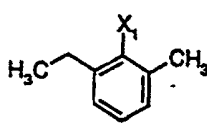
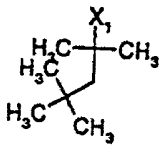
25.06.02

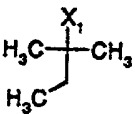
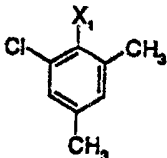
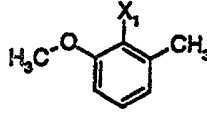
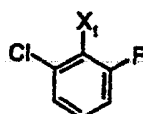
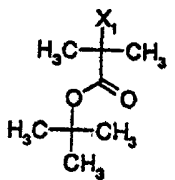
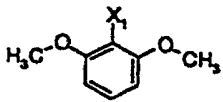
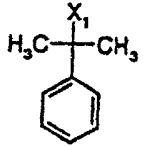
401

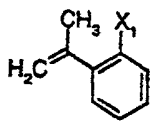
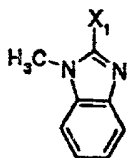
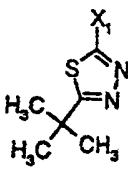
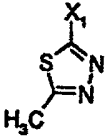
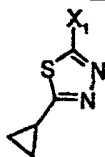
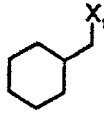
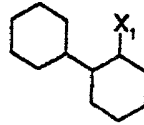
	6
	18
	20
	-23
	-12
	22
	9

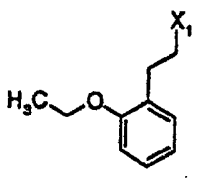
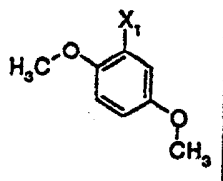
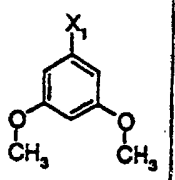
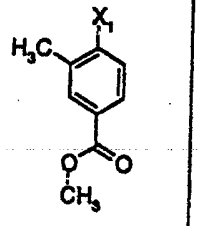
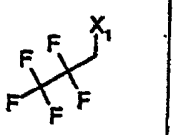
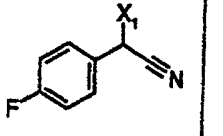
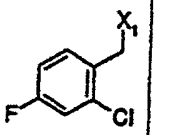
	7
	-4
	4
	7
	7
	18
	11
	-31

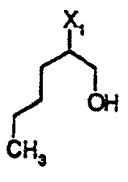
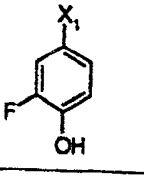
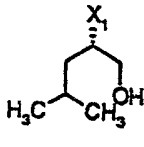
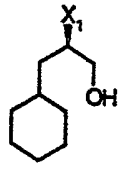
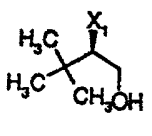
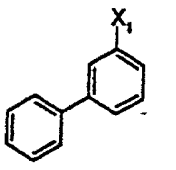
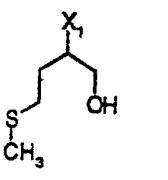
	-22
	-5
	-1
	-7
	-22
	-3
	11

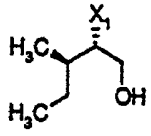
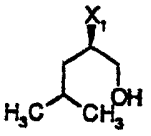
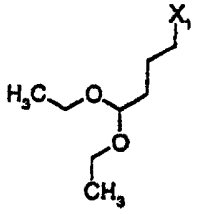
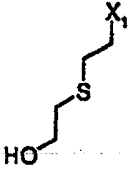
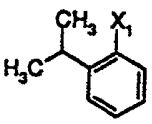
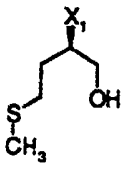
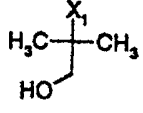
	4
	20
	15
	-45
	-37
	-20
	-4
	0

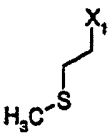
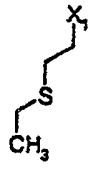
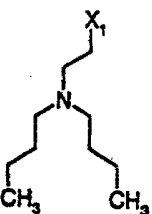
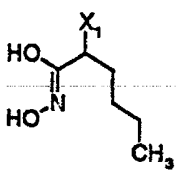
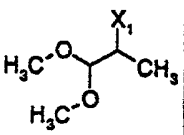
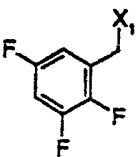
	-29
	-26
	3
	8
	12
	6
	-57
	-25

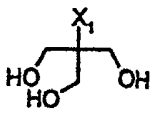
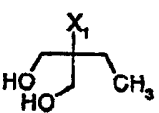
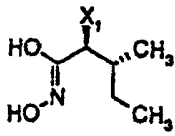
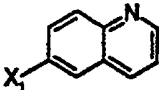
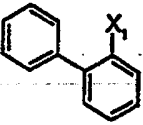
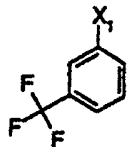
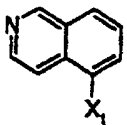
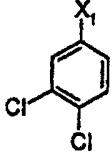
	-41
	-21
	-28
	-20
	-20
	3
	11

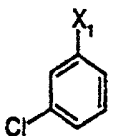
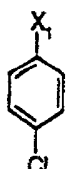
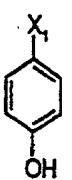
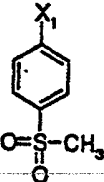
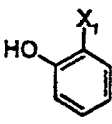
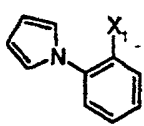
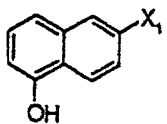
	1
	-5
	-60
	-46
	-22
	-20
	-7

	-28
	-10
	-13
	13
	-7
	-13
	-45

	-40
	-2
	-11
	-31
	-30
	-11
	-2

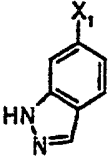
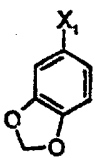
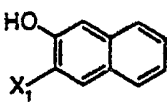
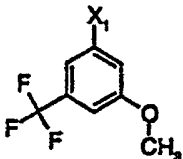
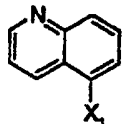
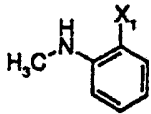
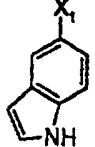
	18
	7
	1
	0
	0
	24

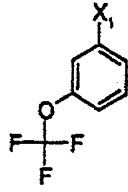
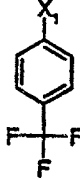
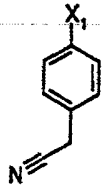
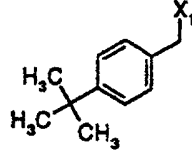
	14
	61
	9
	1
	1
	4
	1
	8

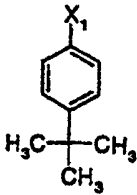
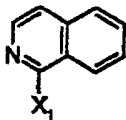
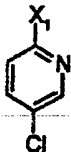
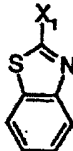
	-15
	-12
	52
	19
	13
	-7
	-26

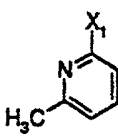
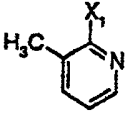
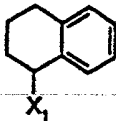
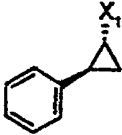
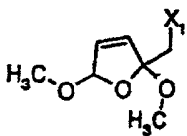
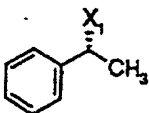
25.06.02

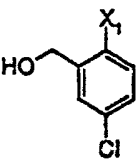
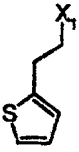
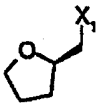
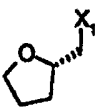
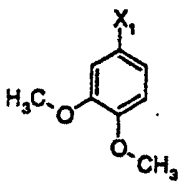
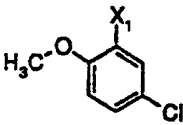
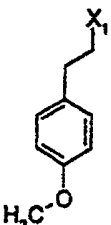
407

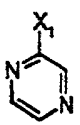
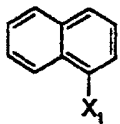
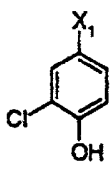
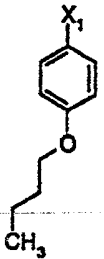
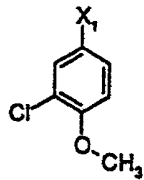
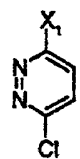
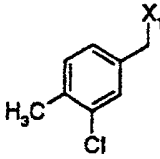
	7
	9
	18
	10
	-37
	-2
	43

	5
	1
	-3
	-13
	-1

	-1
	16
	4
	-23
	-20
	-15

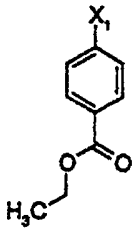
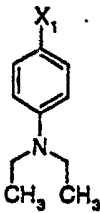
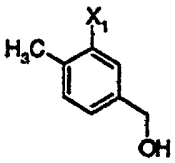
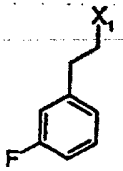
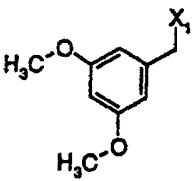
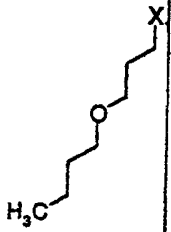
	10
	-18
	-9
	29
	1
	10
	0
	9

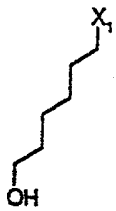
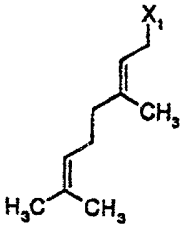
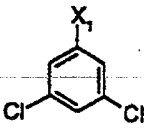
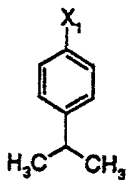
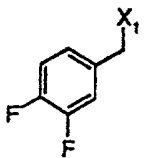
	48
	36
	-8
	-11
	1
	-4
	10

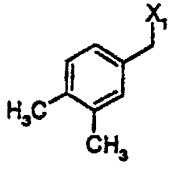
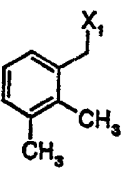
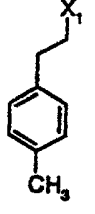
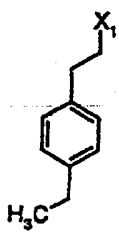
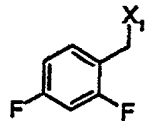
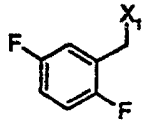
	-1
	-33
	-19
	-6
	2
	-21
	-16

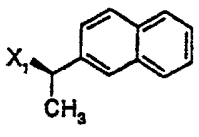
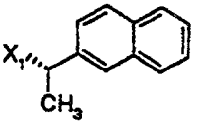
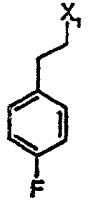
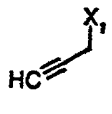
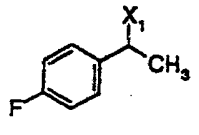
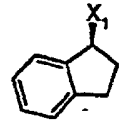
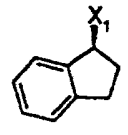
25.06.02

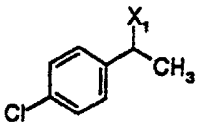
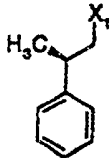
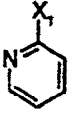
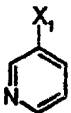
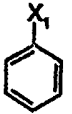
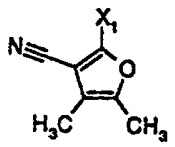
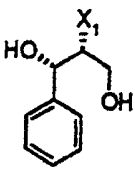
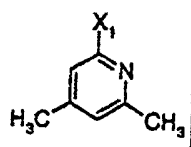
411

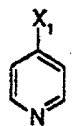
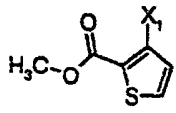
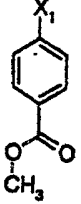
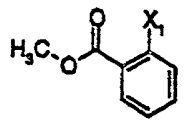
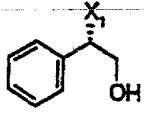
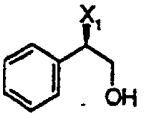
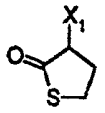
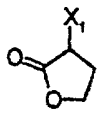
	-25
	-9
	1
	4
	37
	-12

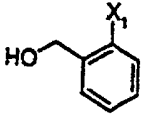
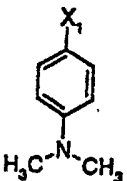
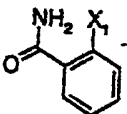
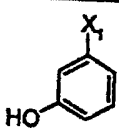
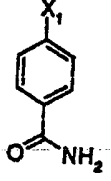
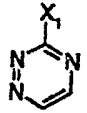
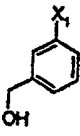
	-20
	-22
	7
	-22
	-12
	0

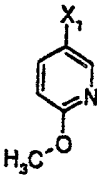
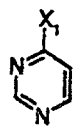
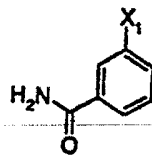
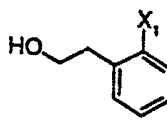
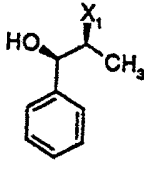
	-6
	13
	-1
	-11
	11
	15

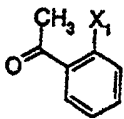
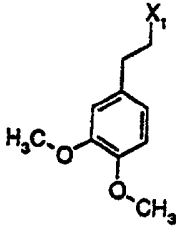
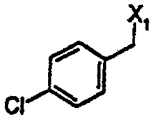
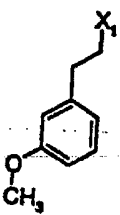
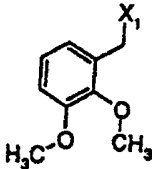
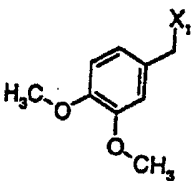
	-8
	1
	3
	9
	2
	8
	15

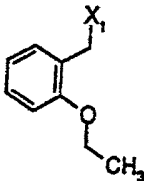
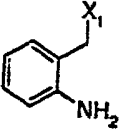
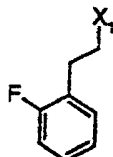
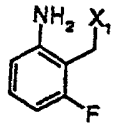
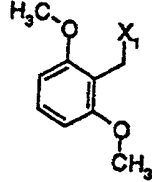
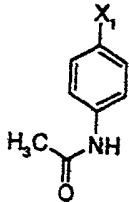
	14
	3
	-31
	-2
	11
	13
	10
	3

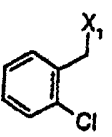
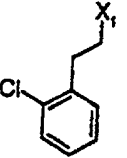
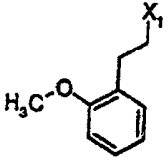
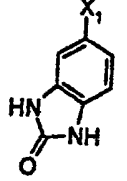
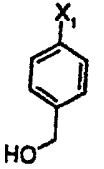
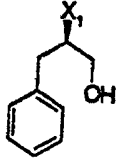
	6
	2
	-1
	3
	18
	-17
	-8
	3

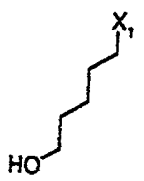
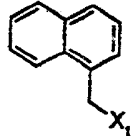
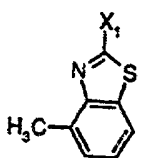
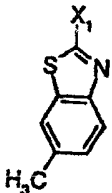
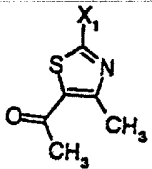
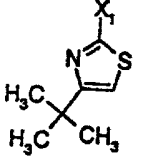
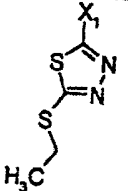
	0
	18
	7
	-6
	2
	3
	14

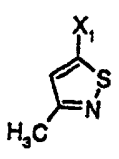
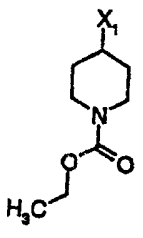
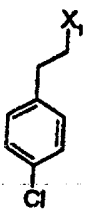
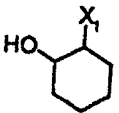
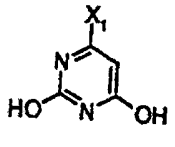
	10
	-20
	-10
	4
	10
	9

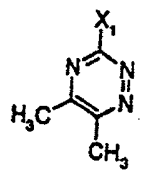
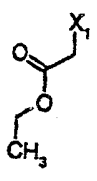
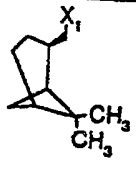
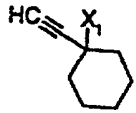
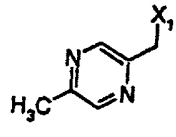
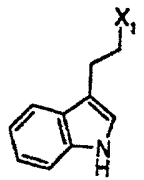
	-7
	-3
	4
	8
	10
	7

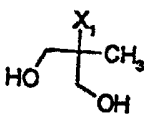
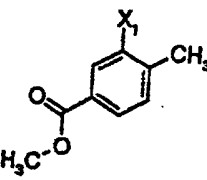
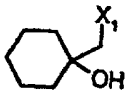
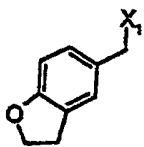
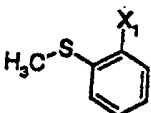
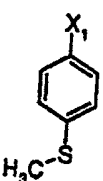
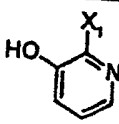
	-9
	46
	2
	23
	11
	-10
	-4

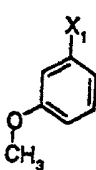
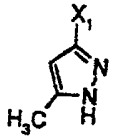
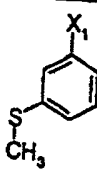
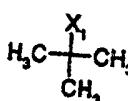
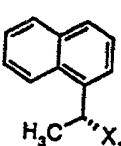
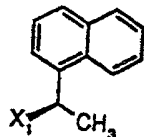
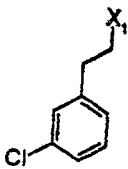
	7
	9
	10
	15
	-18
	-3

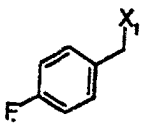
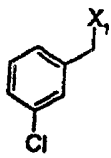
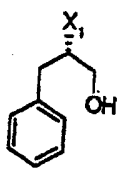
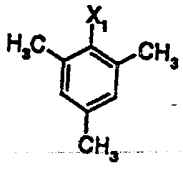
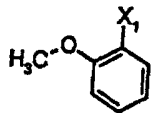
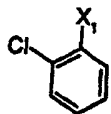
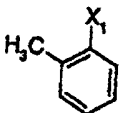
	-2
	5
	-13
	-9
	-2
	-6
	17

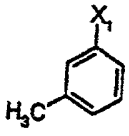
	19
	18
	-24
	0
	-6
	3

	-20
	-16
	-19
	1
	3
	6
	18

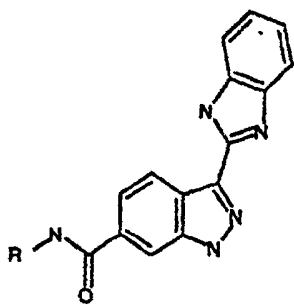
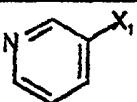
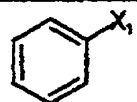
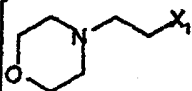
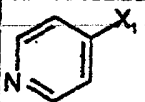
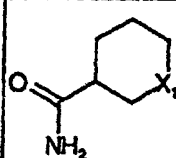
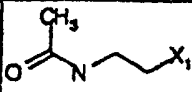
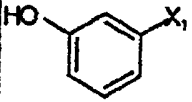
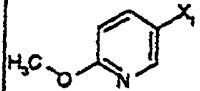
	-18
	-9
	2
	14
	-10
	-7
	4

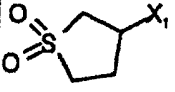
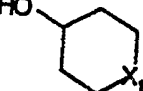
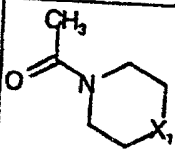
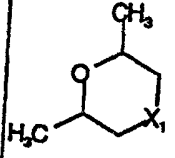
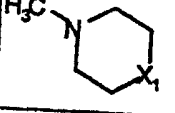
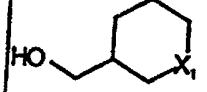
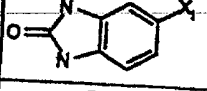
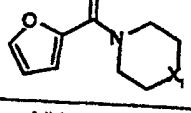
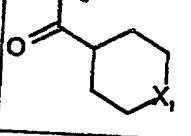
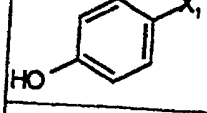
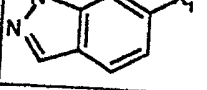
	11
	11
	8
	23
	1
	-20
	0

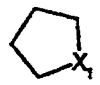
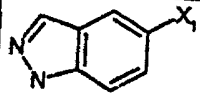
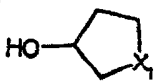
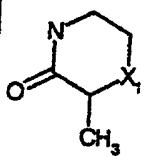
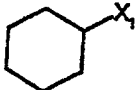
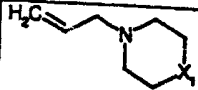
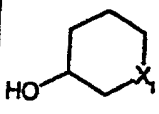
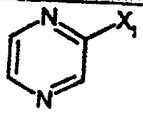
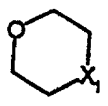
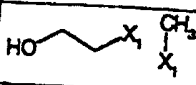
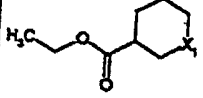
	57
	24
	1
	-10
	-8
	-2
	5

	3

Tabulka 4

	
R	CHK-1 @ 20 μ M
	30,6
	28,3
	22,5
	21,7
	40
	27,8
	20,2
	57,7
	35,5

	24,2
	31,1
	13,7
	23,9
	48,6
	19,5
	32,3
	24,9
	25,8
	94,9
	38,7
	72

	21,1
	31,4
	28,3
	28,5
	28,1
	25,7
	23,9
	36,3
	45,4
	32,7
	24,7

	52,7
	38,6
	23,6
	39,8
	28,1
	33
	52,4
	38,6
	32,3
	42,9
	24,1
	31,6

Tabulka 5

Příklad č.	% inhibice @ 1 μ M	
	Tie2-P	FAK
41(a)	50	5
41(ee)	41	7
41(p)	49	9
41(r)	56	5
41(t)	51	9
48(a)	52	11
31(d)	46	6
33(a)	35	12
35(k)	55	7
35(dd)	48	4
35(n)	82	1
35(cc)	47	7

1(a)	95*	69*
3	NI*	26*
8(a)	55*	3*
2(d)	90*	NI*
8(c)	31*	15*
9(b)	88*	NI*
10	20*	NI*
17	50	
4(a)	69	
11	40	
4(b)	29	
2(c)	NI	
22(a)	8	
23	5	

22(b)	NI	
21	27	
12(a)	NI	
19(a)	18	
19(c)	NI	
12(c)	17	
19(d)	15	
5(a)	44	
16(a)	10	
16(b)	52	
24(a)	91*	
24(b)	92*	
24(c)	94	
30(a)	19	

8(d)	10	

* sloučenina testovaná v koncentraci 10 μ M

Hodnoty uvedené tučným písmem se týkají výsledků spektrofotometrických testů, hodnoty uvedené netučným písmem byly získány v testu DELFIA

Stanovení koncentrace inhibitoru v myší plazmě po intraperitoneálním a perorálním podávání dávky

Dávkovací roztok se skládal z inhibitoru rozpuštěného v jednom z následujících vehikul: buď 30% nebo 60% vodný roztok polypropylenglykolu s molárním ekvivalentem HCl ve vodě nebo 0,5% karboxymethylcelulóza ve vodě. Konečná koncentrace byla normálně 5 mg/ml s dávkovacím objemem 5 nebo 10 ml/kg. Samičím myší od firmy Taconic (Germantown, NY) byla podávána dávka jako funkce hmotnosti sloučeniny k tělesné hmotnosti, obvykle 50 nebo 25 mg/kg. Krevní odběry byly prováděny z oční žíly v 0,5, 1, 4 hodinách s konečným časovým bodem 7 hodin, kdy byla krev odebíraná intrakardiální punkcí. Krev byla stočena, aby se sebrala plazma, která pak byla uložena v -80 °C do provádění analýzy. Vzorky byly připraveny pro analýzu s použitím vnitřního standardu a hydroxidu sodného. Po vortexování byl přidán ethylacetát a míchán po dobu 15-20 minut při teplotě místnosti. Po centrifugaci byla výsledná organická vrstva evaporována a pak rekonstituována v acetonitrilu a pufru. Vzorky pak byly analyzovány prostřednictvím HPLC nebo LC-MS.

Hladiny sloučeniny byly kvantifikovány pomocí standardní křivky známé koncentrace sloučeniny v myší plazmě. Hladiny

sloučeniny byly vyneseny do grafu jako funkce času a analyzovány určením plochy pod křivkou koncentrace (AUC ng*hr/ml), maximální koncentrace (C_{max} ng/ml), minimální koncentrace (C_{min} nebo za 7 hodin ng/ml) a konečný biologický poločas ($T_{1/2}$ hodin). Výsledky jsou ukázány v tabulce 6.

Tabulka 6

Příklad č.	Způsob	Dávka mg/kg	AUC _{poslední} (ng*hr/ml)	C _{max} (ng/ml)	C _{min} (7 h konc.) (ng/ml)	T _{1/2} 8 (h)	Vehikulum PEG400:H ₂ O pH 2,3
1 (a)	IP	50	691	283		2,4	30:70
19 (b)	PO	50	NA	30		•	60:40
19 (j)	IP	25	23205	5764	456	1,6	60:40
19 (j)	PO	50	5889	1937	63	1,2	60:40
19 (k)	IP	25	428	149	15	2,2	60:40
19 (k)	PO	50	19	8	4	2,2	60:40
31 (a)	IP	25	47538	13018	1906	2,4	30:70
31 (a)	PO	50	40863	14499	834	1,6	30:70
31 (b)	IP	25	> 7037	> 2000	177	1,7	30:70
31 (b)	PO	50	2071	1100	15	1,0	30:70
31 (d)	IP	25	237784	64184	15073	5,3	30:70
31 (d)	PO	10	49120	9740	2022	3,1	30:70
31 (d)	PO	25	203860	50810	3801	1,9	30:70
31 (d)	PO	50	430683	76915	42478	39,3	30:70
31 (e)	PO	25	> 30339	> 5000	2952	13,1	30:70
31 (f)	PO	25	> 244545	> 50000	9521	2,6	30:70
32 (a)	IP	25	> 20554	> 4000	1273	3,7	30:70
32 (a)	PO	50	4190	1746	40	1,1	30:70
32 (b)	PO	25	490	179	18	2,1	30:70
32 (c)	PO	25	388	161	10	2,4	30:70
33 (a)	IP	25	13813	13794	54	1,1	30:70
33 (a)	PO	100		3556	90		0.5% CMC
33 (a)	PO	25		721	66		0.5% CMC
33 (a)	PO	50	19067	23562	25	0,8	30:70
33 (b)	IP	25	11245	1990	902	3,0	60:40
33 (b)	PO	50	3925	1496	76	3,0	60:40
33 (c)	IP	25	697	505	7	1,2	30:70
33 (c)	PO	50	183	94	5	3,0	30:70
33 (d)	IP	25	5080	1738	113	1,6	60:40
33 (d)	PO	50	4744	1614	8	0,9	60:40
33 (e)	IP	25	14323	9938	94	1,0	30:70
33 (e)	PO	50	13290	9967	12	0,7	30:70
33 (f)	IP	25	1887	1699	6	2,4	30:70

33 (f)	PO	50	1436	1186	3	0,7	30:70
35 (a)	IP	25	2032	2138	24	1,4	30:70
35 (a)	PO	50	2445	1780	10	0,9	30:70
35 (aa)	PO	25	4036	4168	106	2,1	30:70
35 (b)	IP	25	2840	1509	12	0,8	30:70
35 (b)	PO	50	4048	5595	13	0,8	30:70
35 (c)	IP	25	9408	1976	465	3,2	30:70
35 (c)	PO	50	4744	909	321	4,9	30:70
35 (cc)	IP	25	2223	3183	6	1,4	30:70
35 (cc)	PO	50	1718	1439	5	0,9	30:70
35 (dd)	IP	25	> 23046	> 4000	1364	4,1	30:70
35 (dd)	PO	25	1360	444	58	2,0	0,5% CMC
35 (dd)	PO	25	> 6521	> 4000	114	1,4	30:70
35 (e)	IP	25	2409	1272	65	1,8	30:70
35 (e)	PO	50	1503	1043	6	0,9	30:70
35 (ee)	IP	25	546	579	2	1,5	30:70
35 (ee)	PO	25	157	77	9	14,6	30:70
35 (f)	IP	25	397	131	25	3,8	30:70
35 (f)	PO	50	358	93	27	3,6	30:70
35 (ff)	IP	25	> 6301	> 4000	72	1,7	30:70
35 (ff)	PO	25	Blq	Blq	blq	blq	30:70
35 (g)	PO	25	231	61	28	18,1	30:70
35 (h)	IP	25	59	46	1	1,5	30:70
35 (h)	PO	50	26	7	2	*	30:70
35 (hh)	PO	25	292	221	5	1,7	30:70
35 (i)	PO	25					30:70
35 (j)	IP	25	9531	8606	52	1,3	30:70
35 (j)	PO	50	1328	2176	5	4,5	30:70
35 (k)	IP	25	2640	2189	35	1,4	30:70
35 (k)	PO	50	5529	4524	33	1,4	30:70
35 (m)	IP	25	226	58	17	4,0	30:70
35 (m)	PO	25	10	7	0	*	30:70
35 (n)	PO	25	4818	3545	55	1,4	30:70
35 (o)	PO	25	683	486	3	1,0	30:70
35 (p)	PO	25	1435	1958	5	1,3	30:70
35 (r)	PO	25	4261	2601	67	1,3	30:70
35 (s)	PO	25	7425	3371	86	2,2	30:70
35 (t)	PO	25	3199	2801	41	1,1	30:70
35 (u)	PO	25					30:70
35 (v)	IP	25	4865	2215	16	0,9	30:70
35 (v)	PO	50	> 2946	> 2000	26	1,0	30:70
35 (x)	IP	25	951	781	48	3,2	30:70
35 (x)	PO	50	3516	2313	16	0,9	30:70
35 (y)	IP	25	159	135	2	1,2	30:70
35 (y)	PO	50	58	45	1	1,2	30:70

35 (z)	IP	25	837	556	22	1,8	30:70
35 (z)	PO	50	1001	806	14	1,6	30:70
36 (a)	PO	25	605	445	17	1,5	30:70
37 (a)	PO	25					30:70
37 (c)	PO	25	2419	2338	9	1,2	30:70
39 (a)	PO	25	> 14848	> 4000	219	1,4	30:70
39 (b)	PO	25	> 30972	> 5000	3148	11,8	30:70
4 (a)	PO	50	NA	50		NA	60:40
41 (a)	IP	25	92823	32202	3856	2,9	30:70
41 (a)	PO	50	48998	18433	2462	3,4	30:70
41 (aa)	IP	25	6659	2427	124	2,1	60:40
41 (aa)	PO	50	289	259	5	0,9	60:40
41 (b)	IP	25	> 5868	> 1000	412	4,7	60:40
41 (b)	PO	50	759	532	6	1,1	60:40
41(bb)	PO	50	2178	596	75	2,0	30:70
41 (c)	IP	25	3397	2068	57	1,7	60:40
41 (c)	PO	50	3182	1296	104	2,6	60:40
41 (d)	IP	25	10324	2787	573	2,8	60:40
41 (d)	PO	50	7072	2954	150	1,5	60:40
41 (dd)	PO	25	654	542	1	0,8	30:70
41 (e)	IP	25	4900	1154	301	1,6	60:40
41 (e)	PO	50	302	113	7	1,6	60:40
41 (ee)	IP	25	> 28434	> 5000	1670	4,0	30:70
41 (ee)	PO	50	> 25294	> 5000	1214	3,4	30:70
41 (ff)	PO	25	9176	2784	410	2,0	30:70
41 (g)	IP	25	1925	1583	0	0,3	60:40
41 (g)	PO	50	508	842	1	0,7	60:40
41 (gg)	PO	25	2692	2079	29	1,1	30:70
41 (h)	IP	25	26911	16005	300	1,2	30:70
41 (h)	PO	50	4677	4080	7	0,7	30:70
41 (hh)	PO	25	5601	1526	405	7,9	30:70
41 (i)	IP	25	1854	623	102	3,1	30:70
41 (i)	PO	50	212	104	0	0,5	30:70
41 (ii)	PO	25	7094	1826	346	2,3	30:70
41 (j)	PO	25	1476	1008	17	1,3	30:70
41 (kk)	PO	25	11612	3709	415	2,0	30:70
41 (m)	IP	25	1864	501	54	2,3	30:70
41 (m)	PO	50	9	5	0	blq	30:70
41 (mm)	PO	25	2261	852	127	2,5	30:70
41 (n)	IP	25	9408	1976	465	3,2	30:70
41 (n)	PO	50	9066	2245	253	1,9	30:70
41 (o)	IP	25	> 33750	> 5000	> 5000	*	30:70
41 (o)	PO	50	14717	4776	427	1,7	30:70
41 (p)	IP	25	4150	866	380	5,5	30:70
41 (q)	IP	25	> 27000	> 4000	> 4000	*	30:70

41 (q)	PO	25	8572	1901	457	5,2	30:70
41 (r)	IP	25	> 23752	> 5000	> 5000	*	30:70
41 (r)	PO	50	> 17789	> 5000	> 5000	*	30:70
41 (t)	PO	25	> 22498	> 4000	1350	4,0	30:70
41 (u)	PO	25	875	224	51	5,6	30:70
41 (v)	PO	25	10949	2338	749	4,4	30:70
41 (x)	PO	25	24174	4587	1268	4,2	30:70
41 (y)	PO	25	Blq	Blq	blq	blq	30:70
42 (a)	IP	25	19899	4027	1639	5,0	60:40
42 (a)	PO	50	8384	3264	341	2,0	60:40
42 (b)	IP	25	3207	953	211	3,0	60:40
42 (b)	PO	50	4747	2589	46	3,0	60:40
42 (d)	IP	25	1774	886	31	1,4	60:40
42 (d)	PO	50	46	28	18	Blq	60:40
45 (b)	IP	25	11361	2636	1123	2,0	60:40
45 (b)	PO	50	1636	427	102	3,0	60:40
47	IP	25	236	39	29	19,9	30:70
47	PO	50	327	84	25	3,4	30:70
59(a)	PO	25	50780	15878	1205	1,6	0,5% CMC
48 (a)	IP	25	27000	4000	4000	*	30:70
48 (a)	PO	25	26636	4000	3857	*	30:70
48 (b)	PO	25	2191	476	136	4	30:70
49 (a)	PO	25	712	342	15		30:70
49 (b)	PO	25	33750	5000	5000		30:70
5 (b)	PO	10	61	12		3,1	60:40
59 (a)	PO	8	7707	2489	122	1,5	0,5% CMC
59 (a)	PO	40	57240	13798	1879	2,4	0,5% CMC
59 (a)	PO	200	156153	29975	12117	9,4	0,5% CMC
59 (b)	PO	50	276467	50000	26880		CMC
59 (c)	PO	25	327135	50000	43090		CMC
59 (d)	PO	8	> 24696	> 5000	1902		0,5% CMC
59 (d)	PO	40	> 32297	> 5000	4135		0,5% CMC
59 (d)	PO	200	> 123206	> 20000	12743		0,5% CMC
59 (e)	PO	25	12510	28834	2135	21	0,5% CMC

In vivo test rozvoje retinální vaskularizace u neonatálních laboratorních potkanů

Rozvoj retinální vaskularizace u neonatálních laboratorních potkanů se děje od 1. Postnatálního dne do 14. Postnatálního dne (P1-P14). Tento proces je závislý na aktivitě VEGF (J. Stone, et al., J. Neurosci., 15, 4738, 1995). Dřívější práce prokázaly, že VEGF také působí jako faktor přežití pro cévy retiny během časného rozvoje vaskularizace (Alon, et. al, Nat. Med., 1, 1024, 1995). Pro

stanovení schopnosti specifických sloučenin inhibovat aktivitu VEGF in vivo byly sloučeniny formulovány ve vhodném vehikulu, obvykle 50% polyethylenglykolu, průměrné molekulové hmotnosti 400 daltonů, a 50% roztoku 300 mM sacharózy v deionizované vodě. Typicky byly injikovány dva mikrolitry (2 μ l) roztoku léčiva na střed sklivce oka mláďat laboratorního potkana 8. Nebo 9. Postnatální den. Šest dnů po injekci do sklivce byla zvířata utrácena a retiny byly řezem uvolněny od ostatní oční tkáně. Izolované retiny pak byly podrobeny protokolu histochemického značení, které barví specificky endotelové buňky (Lutty a McLeod, Arch. Ophthalmol., 110, 267, 1992), a tak odhaluje vaskularizaci ve vzorku tkáně. Jednotlivé retiny pak byly fixovány na podložních sklíčkách a vyšetřeny, aby se určil rozsah vaskularizace. Účinné sloučeniny inhibovaly další rozvoj retinální vaskularizace a indukovaly regresi všech cév, kromě těch největších, v retině. Stupeň cévní regrese byl použit ke stanovení relativní účinnosti sloučenin po in vivo podávání. Cévní regrese je odstupňována podle subjektivní stupnice jedním až třemi křížky, přičemž jeden křížek znamená detekovatelnou regresi usuzovanou na přibližně 25 procent nebo méně, dva křížky jsou přisouzeny přibližně 25-75 % regresi a tři křížky jsou dávány retinám s téměř celkovou regresí (přibližně 75% nebo větší).

Pro přesnější kvantitativní analýzu regrese byly obrazy ADPázou značených fixovaných retin nasnímány digitální kamerou připojenou k mikroskopu. Obrazy retiny pak byly importovány do softwaru pro analýzu obrazu (Image Pro Plus 4,0, Media Cybernetics, Silver Spring, MD). Software byl použit k určení procenta oblasti retiny, která obsahovala obarvené cévy. Tato hodnota pro experimentální oko byla srovnána s hodnotou změřenou pro injikované vehikulum kontralaterálního oka téhož zvířete. Redukce vaskulární oblasti pozorovaná v oku, které dostalo sloučeninu ve srovnání s okem injikovaným vehikulem,

pak byla exprimována jako „procento regrese“ pro daný vzorek. Hodnoty procent regrese byly zprůměrněny pro skupiny 5 až 8 zvířat.

Ve vzorcích, ve kterých pozorování mikroskopem ukázalo téměř úplnou regresi, byla rutinně měřena hodnota procenta regrese 65-70 %. To bylo způsobeno barvením deposit v záhybech retiny, záhyby byly indukovány vehikulem použitým pro injekce léčiva. Software pro analýzu obrazu interpretovalo tyto záhyby obsahující barvivo jako cévy. Nebyl učiněn žádný pokus korekce těchto záhybů, protože se měnily od oka k oku. Je tedy nutné poznamenat, že hodnoty procenta regrese se týkají výsledku konzervativního měření, které sice přesně určuje pořadí sloučenin, ale podceňuje jejich absolutní účinnost.

In vivo test rozvoje retinální vaskularizace v modelu retinopatie nedonošených neonatálních laboratorních potkanů

Druhý model na VEGF závislé retinální neovaskularizace byl použit k vyhodnocení aktivit této řady sloučenin. V tomto modelu (Penn et. al, Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 36, 2063, 1995) jsou mláďata laboratorního potkana (n = 16) se svými matkami vložena do počítačem řízené komory, která reguluje koncentraci kyslíku. Zvířata jsou exponována po dobu 24 hodin koncentraci 50% kyslík, pak následuje 24 hodin v koncentraci 10% kyslíku. Tento střídavý cyklus hyperoxie následované hypoxií je opakován 7 krát, a pak jsou zvířata přenesena do vzduchu místnosti (P14). Sloučeniny jsou podávány injekcí do sklivce po přenesení do vzduchu místnosti a zvířata byla usmrcena 6 dnů později (P20). Izolované retiny pak byly izolovány, obarvené na sklíčku a analyzovány, jak uvedeno v detailu výše v modelu rozvoje. účinnost byl také hodnocena tak, jak je popsáno pro model rozvoje.

Tabulka 7

Příklad č.	Model	Počáteční hodnocení	% inhibice	Konc. (mg/ml)	Vehikulum PEG/voda
16(e)	ROP	++	36%	5	70:30
16(e)	ROP	+++	54%	10	70:30
16(e)	ROP	++	37%	5	70:30
16(e)	ROP	+/-	16%	1	70:30
19(b)	ROP	++		10	70:30
19(f)	P8	+/++		5	50:50
19(j)	ROP	+/-		10	70:30
19(j)	ROP	--		1	70:30
19(k)	ROP	+/-		10	70:30
19(k)	ROP	--		1	70:30
30(a)	ROP	++		10	70:30
30(a)	ROP	++	48%	10	70:30
31(a)	P8		46%	5	70:30
31(b)	P8		32%	5	50:50

31(c)	P8	+ / ++ var.		5	50:50
31(d)	P8		12%	5	50:50
31(e)	P8		24%	5	50:50
32(a)	P9		20%	5	50:50
33(b)	ROP	++	55%	10	70:30
33(b)	ROP	+/-	14%	1	70:30
33(b)	P6-P10		37%	IP*	70:30
33(e)	P8		22%	5	70:30
33(f)	P8		20%	5	50:50
35(a)	P8		4%	5	50:50
35(aa)	P8	-		5	50:50
35(c)	P8		0%	5	50:50
35(cc)	P8	+ / ++		5	50:50
35(dd)	P8	++ / +++ var.		5	50:50
35(ee)	P8	+ / ++		5	50:50
35(h)	P8	+/-		5	50:50
35(i)	P8	+ / ++		5	50:50
35(j)	P8		7%	5	50:50
35(k)	P8	-		5	50:50
35(k)	P8	++		5	50:50
35(v)	P8		20%	5	50:50
38(a)	ROP	+++	55%	10	70:30
38(a)	ROP	+	16%	1	70:30
39(b)	P8		9%	5	50:50

4(a)	ROP	++		10	70:30
41(a)	ROP	+++	64%	10	70:30
41(a)	P8		0%	0.5	50:50
41(a)	P8		4%	1	50:50
41(a)	P8	++/+++		5	50:50
41(c)	ROP	+++	54%	10	70:30
41(c)	ROP	+/-	16%	1	70:30
41(c)	P8	++	—	5	50:50
41(d)	ROP	+++	59%	10	70:30
41(d)	ROP	+/-	0%	1	70:30
41(e)	P8		8%	5	50:50
41(ee)	P8	+/+ var.		5	50:50
41(g)	P8		37%	5	50:50
41(h)	P8		0%	5	70:30
41(j)	P8	+/+		5	50:50
41(k)	P8		1%	5	50:50
41(l)	P8		28%	2.5	70:30
41(m)	P8		10%	5	50:50
41(mm)	P8	+		5	50:50
41(n)	P8		2%	5	50:50
41(o)	P8		2%	5	50:50
41(p)	P8		35%	5	50:50
41(r)	P8	+/+ var.		5	50:50
42(a)	ROP	+++	23%	10	70:30

42(a)	ROP	+	1%	1	70:30
42(a)	ROP	+		10	70:30
42(a)	P9		55%	10	70:30
42(a)	P6-P10		61%	IP*	70:30
42(a)	P8	+ / ++		5	50:50
42(b)	P9		40%	10	70:30
42(c)	P8		36%	5	50:50
45(b)	ROP	++	60%	10	70:30
45(b)	ROP	+/-	25%	1	70:30
49(a)	P8		54%	5	50:50
49(b)	P8		5%	5	50:50
5(b)	ROP	++	45%	5	70:30
59(a)	ROP		41%	10	0.5%CMC
59(a)	ROP		19%	1	0.5%CMC
6(a)	ROP	++		5	65:35
6(b)	ROP	++		10	70:30

Kináza fosforylázy

Konstrukt kinázy fosforylázy pro test

Zkrácená katalytická podjednotka (podjednotka gama) kinázy fosforylázy (aminokyseliny 1 až 298) byla exprimována v *E. Coli* a izolována z inkluzních tělísek. Kináza fosforyláza pak byl znovu složena a uložena v glycerolu v -20 °C.

Test kinázy fosforylázy.

V testu byla použita purifikovaná katalytická podjednotka k fosforylaci fosforylázy b s použitím radioaktivně značeného ATP. Stručně, 1,5 mg/ ml fosforylázy b bylo inkubováno s 10nM kinázy fosforylázy v 10mM MgCl₂, 50mM Hepes, pH 7,4, ve 37 °C. Reakce byla spuštěna přidáním ATP do 100 μM a inkubována po dobu 15 minut v 25 °C nebo 37 °C. Reakce byla ukončena a proteiny byly precipitovány přidáním TCA do 10% konečné koncentrace. Precipitované proteiny byly izolovány na 96 jamkových filtračních destičkách Millipore MADP NOB. Filtrační destičky pak byl důkladně promyty 20% TCA a usušeny. Pak byla na destičky přidána scintilační tekutina a inkorporovaná radioaktivní značka byla počítána na Wallacově mikropočítači beta impulzů. % inhibice transferu fosfátu z ATP na fosforylázu b v přítomnosti 10 μM sloučeniny je ukázáno v tabulce 8 níže.

Tabulka 8

Příklad č.	% inhibice @ 10 μM
52 (b)	92
27 (f)	90
27 (a)	37

Příklady sloučenin popsaných výše mohou být formulovány do farmaceutických přípravků podle následujících obecných příkladů.

Příklad 1

Parenterální přípravek

Aby se připravil parenterální farmaceutický přípravek vhodný pro podávání injekcí, bylo rozpuštěno 100 mg ve vodě rozpustné soli sloučeniny vzorce I v DMSO, a pak smícháno s 10 ml 0,9% sterilního fyziologického roztoku. Směs je formulována do jednotkové dávkové formy vhodné pro podávání injekcí.

Příklad 2

Perorální přípravek

Aby se připravil farmaceutický přípravek pro perorální podávání, bylo smícháno 100 mg sloučeniny vzorce I se 750 mg laktózy. Směs byla formulována do perorální dávkové jednotky, jako je například tvrdá želatinová tobolka, která je vhodná pro perorální podávání.

Příklad 3

Intraoční přípravek

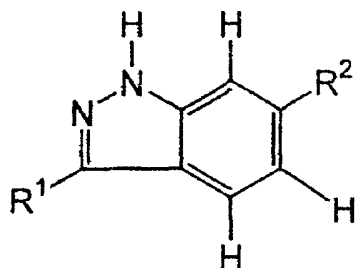
Aby se připravil farmaceutický přípravek s prodlouženým uvolňováním pro intraoční podávání, byla sloučenina vzorce I suspendována v neutrálním, isotonickém roztoku hyaluronové kyseliny (1,5% konc.) ve fosfátovém pufru (pH 7,4) za vzniku 1% suspenze.

Je třeba rozumět, že předchozí popis je uveden jako příklad a vysvětlení výhodných provedení vysvětlující povahy a

je zamýšlen pro ilustraci vynálezu a jeho výhodných provedení. Na základě rutinních experimentů odborník snadno najde modifikace a variace, které mohou být vytvořeny bez odchýlení se od vynálezecké myšlenky. Předpokládá se tedy, že rozsah vynálezu není definován výše uvedeným popisem, ale připojenými patentovými nároky a jejich ekvivalenty.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Sloučenina vzorce I:



(I)

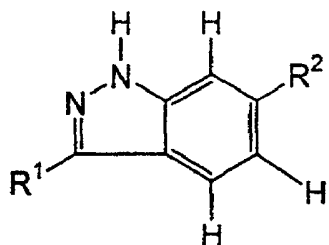
kde:

R^1 je nesubstituovaná arylová skupina nebo substituovaná nebo nesubstituovaná heteroarylová skupina nebo skupina vzorce $CH=CH-R^3$ nebo $CH=N-R^3$, kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, alkenylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocykloalkylová skupina, arylová skupina nebo heteroarylová skupina a

R^2 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, heteroarylová skupina nebo skupina Y-X, kde Y je atom O, S, skupina $C=CH_2$, skupina $C=O$, $S=O$, SO_2 , alkylidenová skupina, skupina NH nebo N-alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku a X je substituovaná nebo nesubstituovaná Ar, heteroarylová skupina, NH-alkylová skupina, NH-cykloalkylová skupina, NH-heterocykloalkylová skupina, NH-arylová skupina, NH-heteroarylová skupina, NH-alkoxyskupina nebo NH-di-alkylamidorskupina, přičemž Ar je arylová skupina,

nebo její farmaceuticky přijatelný prekurzor, farmaceuticky aktivní metabolit nebo farmaceuticky přijatelná sůl.

2. Sloučenina vzorce I(a):



(I(a))

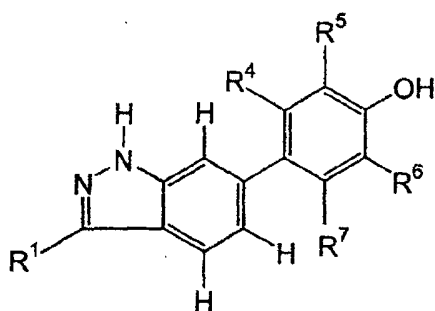
kde:

R^1 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina nebo skupina vzorce $CH=CH-R^3$ nebo $CH=N-R^3$, kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, alkenylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocykloalkylová skupina, arylová skupina nebo heteroarylová skupina a

R^2 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo skupina $Y-Ar$, kde Y je atom O, S, skupina $C=CH_2$, skupina $C=O$, skupina $S=O$, skupina SO_2 , skupina CH_2 , skupina $CHCH_3$, skupina NH nebo N-alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku a Ar je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina,

nebo její farmaceuticky přijatelný prekurzor, farmaceuticky aktivní metabolit nebo farmaceuticky přijatelná sůl.

3. Sloučenina vzorce II:



(II)

kde:

R^1 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina nebo skupina vzorce $CH=CH-R^3$ nebo $CH=N-R^3$, kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocykloalkylová skupina, arylová skupina nebo heteroarylová skupina,

R^4 a R^7 jsou každý nezávisle atom vodíku, skupina OH, atom halogenu, alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, alkoxy skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, alkenylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, aryloxy skupina, thioarylová skupina, skupina CH_2-OH , CH_2-O -alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku v alkylové části, CH_2-O -arylová skupina, CH_2-S -alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku v alkylové části nebo CH_2-S -arylová skupina,

R^5 a R^6 jsou každý nezávisle atom vodíku, skupina OH, atom halogenu, Z-alkylová skupina, Z-arylová skupina nebo skupina $Z-CH_2CH=CH_2$, kde Z je atom O, S, skupina NH nebo skupina CH_2 a alkylová skupina a arylová skupina ze Z-alkylové skupiny a Z-arylové skupiny je každá volitelně substituovaná,

nebo její farmaceuticky přijatelný prekurzor, farmaceuticky aktivní metabolit nebo farmaceuticky přijatelná sůl.

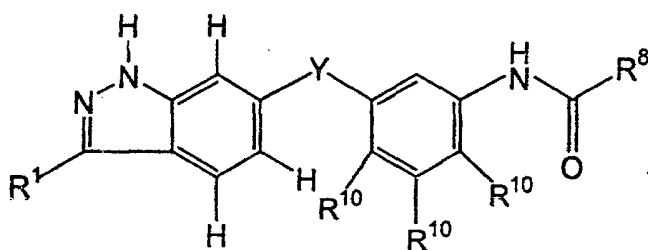
4. Sloučenina, její farmaceuticky přijatelný prekurzor, farmaceuticky aktivní metabolit nebo farmaceuticky přijatelná sůl podle nároku 3, kde:

R^1 je substituovaná nebo nesubstituovaná bicyklická heteroarylová skupina nebo skupina vzorce $CH=CH-R^3$, kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina,

R^4 a R^7 jsou každý nezávisle atom vodíku nebo alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku a

R^5 a R^6 jsou každý nezávisle atom halogenu, Z-alkylová skupina nebo skupina $Z-CH_2CH=CH_2$, kde Z je atom O nebo S a alkylová skupina je volitelně substituovaná.

5. Sloučenina vzorce III:



(III)

kde:

R^1 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina nebo skupina vzorce $CH=CH-R^3$ nebo $CH=N-R^3$, kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocykloalkylová skupina, arylová skupina nebo heteroarylová skupina,

Y je atom O, S, skupina $C=CH_2$, skupina $C=O$, skupina $S=O$, skupina SO_2 , skupina CH_2 , skupina $CHCH_3$, skupina NH nebo N-alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku,

R^8 je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, alkenylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocykloalkylová skupina, arylová skupina, heteroarylová skupina, alkoxy skupina nebo aryloxy skupina,

R^{10} je nezávisle vybrán ze skupiny, kterou tvoří atom vodíku, atom halogenu a nižší alkylová skupina,

nebo její farmaceuticky přijatelný prekurzor, farmaceuticky aktivní metabolit nebo farmaceuticky přijatelná sůl.

6. Sloučenina, její farmaceuticky přijatelný prekurzor, farmaceuticky aktivní metabolit nebo farmaceuticky přijatelná sůl podle nároku 5, kde:

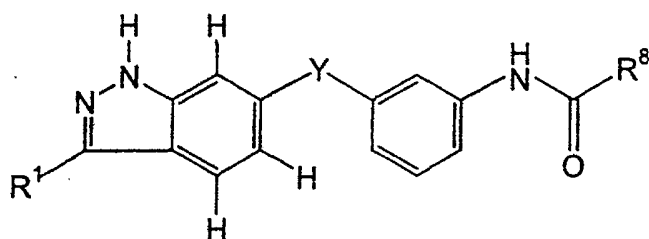
R^1 je substituovaná nebo nesubstituovaná bicyklická heteroarylová skupina nebo skupina vzorce $CH=CH-R^3$, kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina,

Y je atom O, S, skupina $C=CH_2$, skupina $C=O$, skupina NH nebo N-alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku,

R^8 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina, alkylová skupina a alkenylová skupina a

R^{10} je atom vodíku nebo atom halogenu.

7. Sloučenina vzorce III(a):



(III(a))

kde:

R^1 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina nebo skupina vzorce $CH=CH-R^3$ nebo $CH=N-R^3$, kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová

skupina, cykloalkylová skupina, heterocykloalkylová skupina, arylová skupina nebo heteroarylová skupina,

Y je atom O, S, skupina $C=CH_2$, skupina $C=O$, skupina $S=O$, skupina SO_2 , skupina CH_2 , skupina $CHCH_3$, skupina NH nebo N-alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku,

R^8 je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, alkenylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocykloalkylová skupina, arylová skupina, heteroarylová skupina, alkoxy skupina nebo aryloxy skupina,

nebo její farmaceuticky přijatelný prekurzor, farmaceuticky aktivní metabolit nebo farmaceuticky přijatelná sůl.

8. Sloučenina, její farmaceuticky přijatelný prekurzor, farmaceuticky aktivní metabolit nebo farmaceuticky přijatelná sůl podle nároku 7, kde:

R^1 je substituovaná nebo nesubstituovaná bicyklická heteroarylová skupina nebo skupina vzorce $CH=CH-R^3$, kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina,

Y je atom O, S, skupina $C=CH_2$, skupina $C=O$, skupina NH nebo N-alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku a

R^8 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, heteroarylová skupina, alkylová skupina nebo alkenylová skupina.

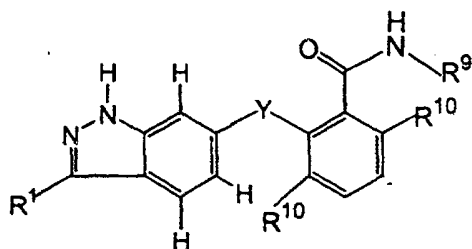
9. Sloučenina, její farmaceuticky přijatelný prekurzor, farmaceuticky aktivní metabolit nebo farmaceuticky přijatelná sůl podle nároku 7, kde:

R^1 je $CH=CH-R^3$, kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina,

Y je atom O nebo S a

R^8 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina.

10. Sloučenina vzorce IV:



(IV)

kde:

R^1 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina nebo skupina vzorce $CH=CH-R^3$ nebo $CH=N-R^3$, kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocykloalkylová skupina, arylová skupina nebo heteroarylová skupina,

Y je atom O, S, skupina $C=CH_2$, skupina $C=O$, skupina $S=O$, skupina SO_2 , skupina CH_2 , skupina $CHCH_3$, skupina NH nebo N-alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku,

R^9 je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocykloalkylová skupina, arylová skupina, heteroarylová skupina, alkoxy skupina, aryloxy skupina, cykloalkoxy skupina, NH-alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, NH-arylová skupina, NH-heteroarylová skupina, $N=CH$ -alkylová skupina, skupina $NH(C=O)R^{11}$ nebo skupina NH_2 , kde R^{11} je nezávisle vybrán ze skupiny, kterou tvoří atom vodíku,

substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocykloalkylová skupina, arylová skupina a heteroarylová skupina a

R^{10} je nezávisle vybrán ze skupiny, kterou tvoří atom vodíku, atom halogenu a nižší alkylová skupina,

nebo její farmaceuticky přijatelný prekurzor, farmaceuticky aktivní metabolit nebo farmaceuticky přijatelná sůl.

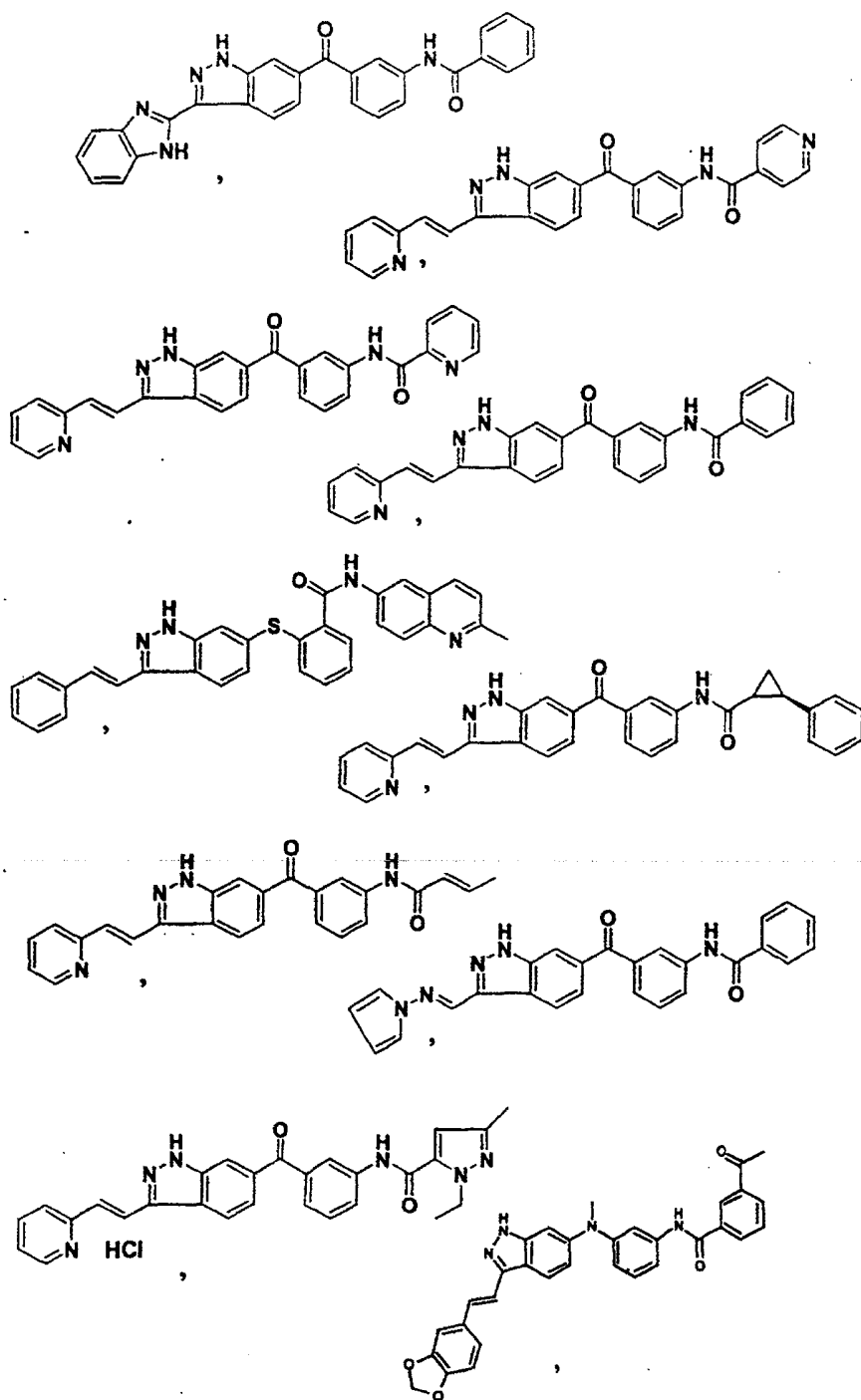
11. Sloučenina, její farmaceuticky přijatelný prekurzor, farmaceuticky aktivní metabolit nebo farmaceuticky přijatelná sůl podle nároku 10, kde:

R^1 je skupina vzorce $CH=CH-R^3$, kde R^3 je substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo heteroarylová skupina,

Y je atom S nebo skupina NH, a

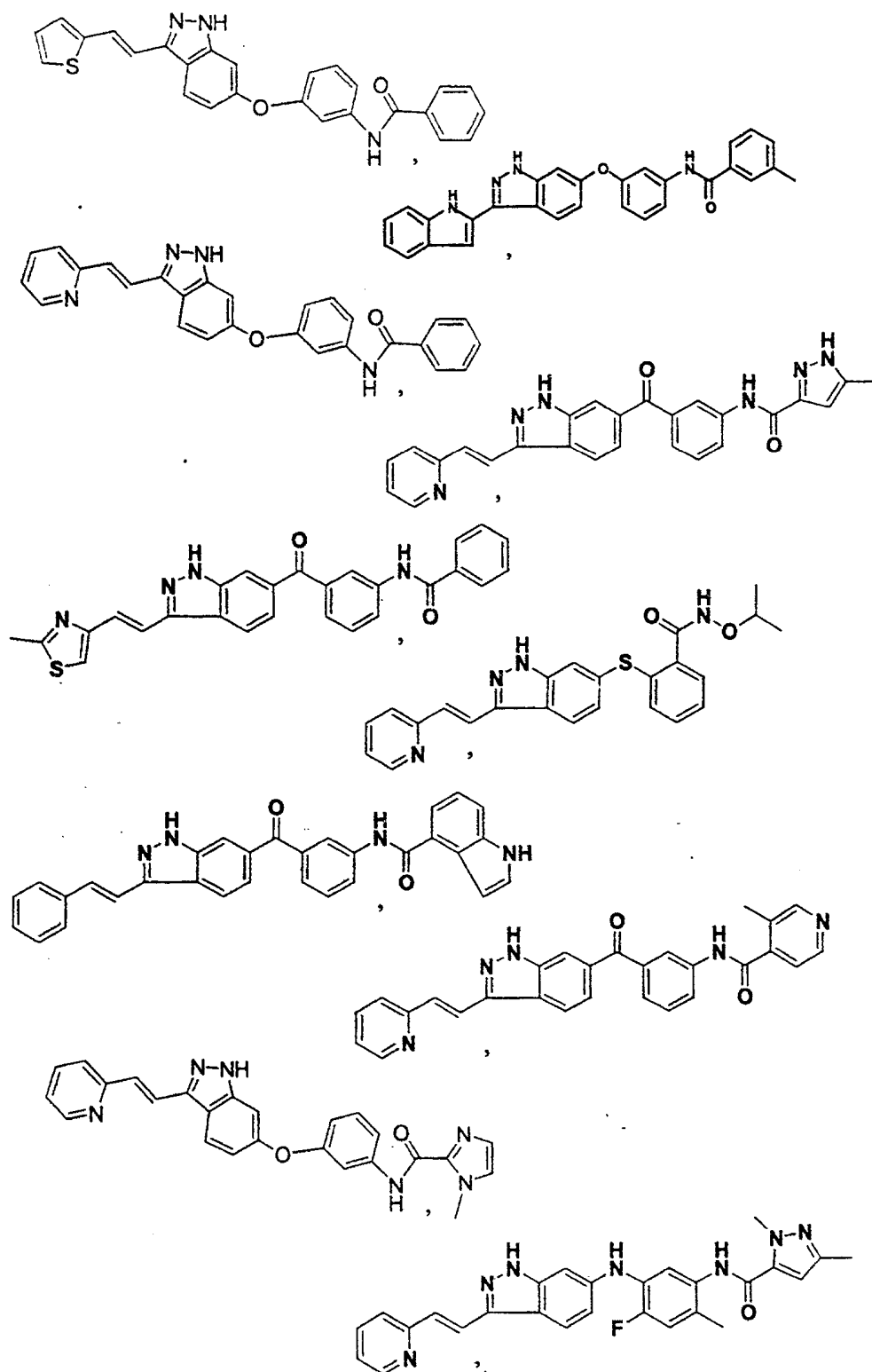
R^9 je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, alkoxy skupina nebo NH-heteroarylová skupina.

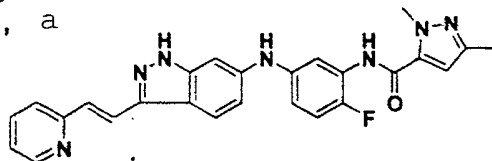
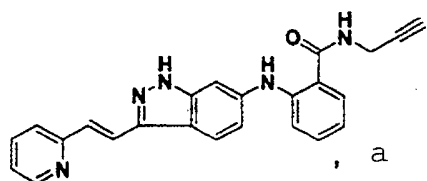
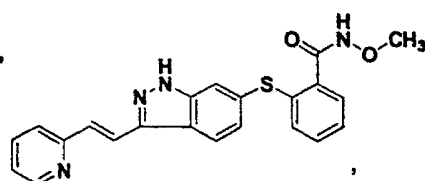
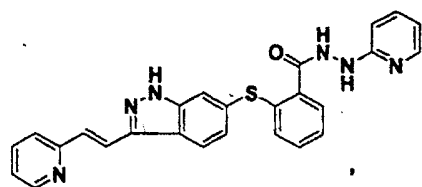
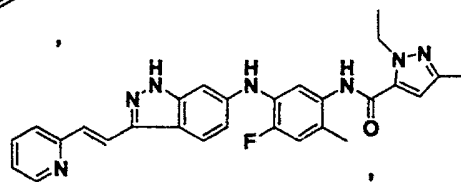
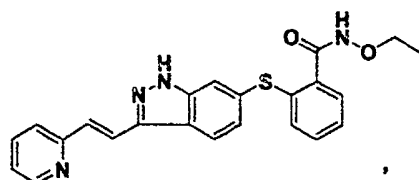
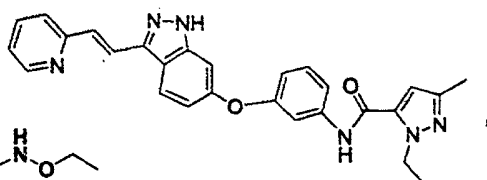
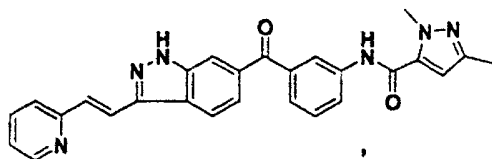
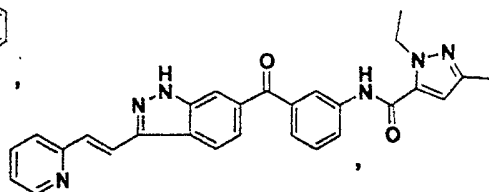
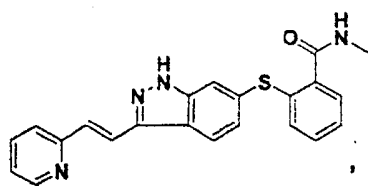
12. Sloučenina, její farmaceuticky přijatelný prekurzor, farmaceuticky aktivní metabolit nebo farmaceuticky přijatelná sůl, vybrané ze skupiny, kterou tvoří:



25.06.02

451





13. Farmaceutický přípravek v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje:

- (a) terapeuticky účinné množství sloučeniny, jejího farmaceuticky přijatelného prekursoru, farmaceuticky aktivního metabolitu nebo farmaceuticky přijatelné soli podle nároku 1 a
- (b) farmaceuticky přijatelný nosič, ředidlo nebo vehikulum.

14. Způsob léčení chorobného stavu savce zprostředkovaného proteinkinázovou aktivitou v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje podávání savci, který to potřebuje, terapeuticky účinné množství sloučeniny, farmaceuticky přijatelného prekursoru, farmaceuticky aktivního metabolitu nebo farmaceuticky přijatelné soli, jak je definováno v nároku 13.

15. Způsob podle nároku 14 v y z n a č u j í c í s e t í m, že chorobný stav savce je sdružen s růstem nádoru, buněčnou proliferací nebo angiogenezí.

16. Způsob modulace aktivity proteinkinázového receptoru v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje kontakt kinázového receptoru s účinným množstvím sloučeniny, jejího farmaceuticky přijatelného prekursoru, farmaceuticky aktivního metabolitu nebo farmaceuticky přijatelné soli, jak jsou definovány v nároku 13.

17. Způsob podle nároku 16 v y z n a č u j í c í s e t í m, že proteinkinázový receptor je receptor VEGF.