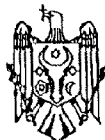




MD 4643 C1 2020.03.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4643** (13) **C1**

(51) Int.Cl: *C07D 471/04* (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01)
C07D 519/00 (2006.01)
A61K 31/4709 (2006.01)
A61K 31/4985 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

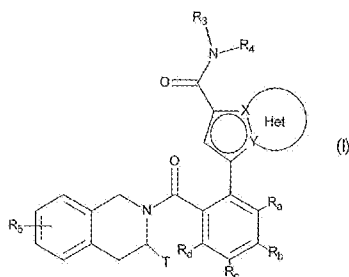
(12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: a 2016 0016 (22) Data depozit: 2014.07.22 (31) Nr.: 13/57265 (32) Data: 2013.07.23 (33) Țara: FR (41) Data publicării cererii: 2016.07.31, BOPI nr. 7/2016	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2019.08.31, BOPI nr. 8/2019 (85) 2016.02.16 (86) PCT/FR2014/051885, 2014.07.22 (87) WO 2015/011397 A1, 2015.01.29
(71) Solicitant: LES LABORATOIRES SERVIER, FR; VERNALIS (R&D) LIMITED, GB (72) Inventatori: LE TIRAN Arnaud, FR; LE DIGUARHER Thierry, FR; STARCK Jerome-Benoit, FR; HENLIN Jean-Michel, FR; DE NANTEUIL Guillaume, FR; GENESTE Olivier, FR; DAVIDSON James Edward Paul, GB; MURRAY James Brooke, GB; CHEN I-Jen, GB (73) Titular: LES LABORATOIRES SERVIER, FR; VERNALIS (R&D) LIMITED, GB (74) Mandatar autorizat: SIMANENKOVA Tatiana	

(54) Noi compuși de indolizină, procedeu de obținere a lor și compoziții farmaceutice care le conțin

(57) Rezumat:

Invenția se referă la compuși cu formula (I):

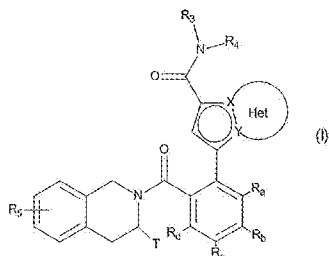


(54) Novel indolizine derivatives, method for the production thereof and pharmaceutical compositions containing same

(57) Abstract:

1

The invention relates to compounds of formula (I):



2

The compounds of the present invention can be used in the treatment of cancers that are resistant to chemotherapy or radiotherapy, malignant diseases of the blood and small cell lung cancer.

The invention also relates to a method for the production of compounds of formula (I) and to pharmaceutical compositions which comprise at least one of the compounds of formula (I) in combination with one or more pharmaceutically acceptable excipients.

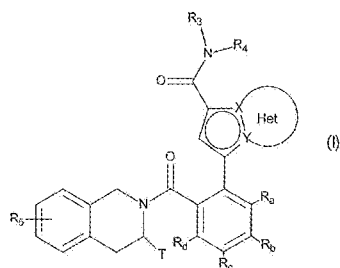
Claims: 16

(54) Новые индолизиновые соединения, способ их получения и фармацевтические композиции их содержащие

(57) Реферат:

1

Изобретение относится к соединениям формулы (I):



2

Соединения, согласно изобретению, могут быть использованы в лечении форм рака, резистентных к химио- или радиотерапии, злокачественных заболеваний крови и мелкоклеточного рака легких.

Изобретение также относится к способу получения соединений формулы (I) и к фармацевтическим композициям, которые включают, по меньшей мере, одно из соединений формулы (I) в комбинации с одним или более фармацевтически приемлемыми наполнителями.

П. формулы: 16

Descriere:**(Descrierea se publică în redacția solicitantului)**

Prezenta invenție se referă la noi compuși de indolizină, la un procedeu de obținere a lor și la compoziții farmaceutice care îi conțin.

Compușii din prezenta invenție sunt noi și posedă caracteristici farmacologice foarte valoroase în domeniul apoptozei și oncologiei.

Apoptoza, sau moartea programată a celulelor, este un proces fiziologic crucial pentru dezvoltarea embrionară și menținerea homeostazei tisulare.

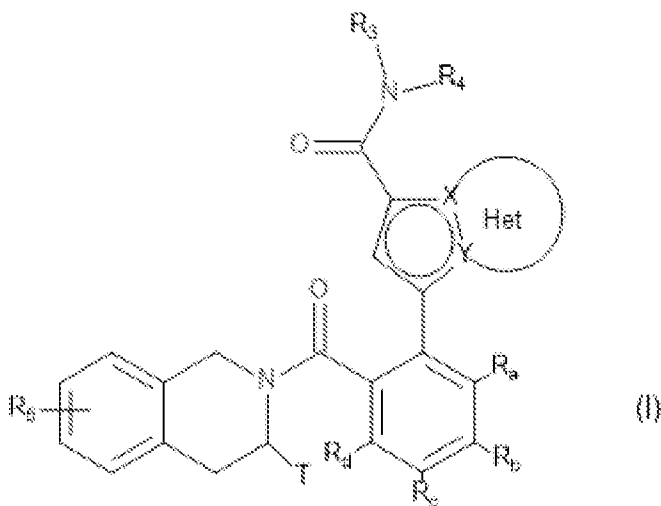
Moartea celulară de tip apoptotic implică modificări morfologice, cum ar fi condensarea nucleului, fragmentarea ADN-ului și, de asemenea, fenomene biochimice, cum ar fi activarea caspazelor, care deteriorează componentele structurale cheie ale celulei, cauzând astfel dezasamblarea și moartea acesteia. Reglarea procesului de apoptoză este complexă și implică activarea sau reprimarea mai multor căi de semnalizare intracelulară (Cory S. et al., Nature Review Cancer, 2002, 2, 647-656).

Dereglarea apoptozei este implicată în anumite patologii. Apoptoza sporită este asociată cu bolile neurodegenerative, cum ar fi boala Parkinson, boala Alzheimer și ischemia. Și dimpotrivă, deficitul în executarea apoptozei joacă un rol semnificativ în dezvoltarea cancerelor și în chimiorezistența acestora, în bolile autoimune, bolile inflamatorii și infecțiile virale. În consecință, absența apoptozei este una dintre caracteristicile fenotipice ale cancerului (Hanahan D. et al., Cell 2000, 100, 57-70).

Proteinele anti-apoptotice din familia Bcl-2 sunt asociate cu numeroase patologii. Implicarea proteinelor din familia Bcl-2 este descrisă în numeroase tipuri de cancer, cum ar fi cancerul colorectal, cancerul mamar, cancerul pulmonar cu celule mici, cancerul pulmonar altul decât cel cu celule mici, cancerul vezicii urinare, cancerul ovarian, cancerul de prostată, leucemia limfoidă cronică, limfomul folicular, mielomul, cancerul de prostată, etc. Supraexpresia proteinelor anti-apoptotice din familia Bcl-2 este implicată în tumorigeneză, în rezistența la chimioterapie și în pronosticul clinic al pacienților afectați de cancer. Prin urmare, există o necesitate terapeutică de compuși care inhibă activitatea anti-apoptotică a proteinelor din familia Bcl-2 [1].

Pe lângă faptul că sunt noi, compușii din prezenta invenție au proprietăți pro-apoptotice, fapt ce permite utilizarea lor în patologii care implică un defect în apoptoză, cum ar fi, de exemplu, în tratamentul cancerului, bolilor autoimune și bolilor sistemului imunitar.

Prezenta invenție se referă, în special, la compușii cu formula (I):



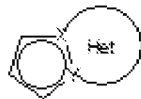
in care:

- ♦ X și Y reprezintă un atom de carbon sau un atom de azot, înțelegându-se că ei nu pot să reprezinte simultan doi atomi de carbon sau doi atomi de azot,



- ♦ fragmentul Het din gruparea reprezintă un inel aromatic sau nearomatic, substituit opțional, compus din 5, 6 sau 7 membri inelari, care pot conține, pe lângă azot, reprezentat de X sau Y, 1 - 3 heteroatomi selectați independent dintre oxigen, sulf și azot, înțelegându-se că azotul în cauză poate fi substituit cu o grupare ce reprezintă un atom de hidrogen, o grupare alchil (C_1-C_6) liniară sau ramificată sau o grupare $C(O)-O-Alk$, unde Alk este o grupare alchil (C_1-C_6) liniară sau ramificată,
- ♦ T reprezintă un atom de hidrogen, o grupare alchil (C_1-C_6) liniară sau ramificată, substituită opțional cu unul - trei atomi de halogen, o grupare alchil (C_2-C_4)- NR_1R_2 , sau o grupare alchil (C_1-C_4)- OR_6 ,
- ♦ R_1 și R_2 , independent unul de celălalt, reprezintă un atom de hidrogen sau o grupare alchil (C_1-C_6) liniară sau ramificată, sau R_1 și R_2 formează cu atomul de azot care îi poartă un heterocicloalchil,
- ♦ R_3 reprezintă o grupare alchil (C_1-C_6) liniară sau ramificată, o grupare alchenil (C_2-C_6) liniară sau ramificată, o grupare alchinil (C_2-C_6) liniară sau ramificată, o grupare cicloalchil, o grupare cicloalchil(C_3-C_{10})-alchil(C_1-C_6), în care fragmentul alchil este liniar sau ramificat, o grupare heterocicloalchil, o grupare aril sau o grupare heteroaril, înțelegându-se că unul sau mai mulți atomi de carbon din grupările precedente, sau ai substituenților posibili ai acestora, pot fi deuterati,,
- ♦ R_4 reprezintă o grupare aril, o grupare heteroaril, o grupare cicloalchil sau o grupare alchil (C_1-C_6) liniară sau ramificată, înțelegându-se că unul sau mai mulți atomi de carbon din grupările precedente, sau ai substituenților posibili ai acestora, pot fi deuterati,
- ♦ R_5 reprezintă un atom de hidrogen sau halogen, o grupare alchil (C_1-C_6) liniară sau ramificată, sau o grupare alcoxi (C_1-C_6) liniară sau ramificată,
- ♦ R_6 reprezintă un atom de hidrogen sau o grupare alchil (C_1-C_6) liniară sau ramificată,
- ♦ R_a, R_b, R_c și R_d , independent unul de celălalt, reprezintă R_7 , un atom de halogen, o grupare alcoxi (C_1-C_6) liniară sau ramificată, o grupare hidroxi, o grupare polihaloalchil (C_1-C_6) liniară sau ramificată, o grupare trifluormetoxi, $-NR_7R_7'$, nitro, $R_7-CO-alchil(C_0-C_6)-$, $R_7-CO-NH-alchil(C_0-C_6)-$, $NR_7R_7'-CO-alchil(C_0-C_6)-$, $NR_7R_7'-CO-alchil(C_0-C_6)-O-$, $R_7-SO_2-NH-alchil(C_0-C_6)-$, $R_7-NH-CO-NH-alchil(C_0-C_6)-$, $R_7-O-CO-NH-alchil(C_0-C_6)-$, o grupare heterocicloalchil, sau substituenții uneia dintre perechile (R_a, R_b), (R_b, R_c) sau (R_c, R_d) formează împreună cu atomii de carbon care îi poartă un inel compus din 5 - 7 membri inelari, care pot conține 1 - 2 heteroatomi selectați dintre oxigen și sulf, înțelegându-se, de asemenea, că unul sau mai mulți atomi de carbon ai inelului definiți mai sus pot fi deuterati sau substituiți cu 1 - 3 grupări selectate dintre halogen sau alchil(C_1-C_6) liniar sau ramificat,
- ♦ R_7 și R_7' , fiecare independent unul de celălalt, reprezintă un hidrogen, un alchil (C_1-C_6) liniar sau ramificat, un alchenil (C_2-C_6) liniar sau ramificat, un alchinil (C_2-C_6) liniar sau ramificat, un aril sau un heteroaril, sau R_7 și R_7' , împreună cu atomul de azot care îi poartă, formează un heterociclu compus din 5 - 7 membri inelari, înțelegându-se că:
- "aril" înseamnă o grupare fenil, naftil, bifenil sau indenil,
 - "heteroaril" înseamnă orice grupare mono- sau biciclică compusă din 5 - 10 membri inelari, având, cel puțin, un fragment aromatic și conținând 1 - 4 heteroatomi selectați dintre oxigen, sulf și azot (inclusiv atomi de azot cuaternar),
 - "cicloalchil" înseamnă orice grupare mono- sau biciclică, nearomatică, carbociclică care conține 3 - 10 membri inelari,
 - "heterocicloalchil" înseamnă orice grupare mono- sau biciclică, nearomatică, condensată sau spiro, care conține 3...10 membri inelari și 1... 3 heteroatomi selectați dintre oxigen, sulf, SO, SO_2 și azot,
- fiind posibil ca grupările aril, heteroaril, cicloalchil și heterocicloalchil astfel definite și grupările alchil, alchenil, alchinil și alcoxi să fie substituite cu 1 - 3 grupări selectate dintre alchil (C_1-C_6) liniar sau ramificat, substituit opțional, spiro (C_3-C_6), alcoxi (C_1-C_6) liniar sau ramificat, substituit opțional, alchil (C_1-C_6)-S, hidroxi, oxo (sau N-oxid, după caz), nitro, ciano, $-COOR'$, $-OCOR'$, $NR'R''$, polihaloalchil (C_1-C_6) liniar sau ramificat, trifluormetoxi, alchilsulfonil (C_1-C_6),

halogen, aril substituit opțional, heteroaril, ariloxi, ariltio, cicloalchil, heterocicloalchil substituit opțional cu unul sau mai mulți atomi de halogen sau grupări alchil, înțelegându-se că R' și R'', fiecare independent unul de celălalt, reprezintă un atom de hidrogen sau o grupare alchil (C₁-C₆) liniară sau ramificată, substituită opțional,



- 5 fiind posibil ca fragmentul Het din gruparea definit în formula (I) să fie substituit cu una - trei grupări selectate dintre alchil (C₁-C₆) liniar sau ramificat, hidroxi, alcoxi (C₁-C₆) liniar sau ramificat, NR₁'R₁' și halogen, înțelegându-se totodată că R₁' și R₁' au definițiile ca pentru grupările R' și R'' sus-menționate.

o bază acceptabilă farmaceutic.

- 10 Printre acizii acceptabili farmaceutic pot fi menționați, fără a se limita la acidul clorhidric, bromhidric, sulfuric, fosforic, acetic, trifluoroacetic, lactic, piruvic, malonic, succinic, glutaric, fumaric, tartric, maleic, citric, ascorbic, oxalic, metansulfonic, camforic, etc.

Printre bazele acceptabile farmaceutic pot fi menționate, fără a se limita la hidroxidul de sodiu, hidroxidul de potasiu, trietilamină, terț-butilamină, etc.



- 15 În mod avantajos, gruparea reprezintă una din următoarele grupări: 5,6,7,8-tetrahidroindolizină, substituită opțional cu o grupare amino; indolizină; 1,2,3,4-tetrahidropirol[1,2-a]pirazină, substituită opțional cu un metil; pirol[1,2-a]pirimidină. Grupările 5,6,7,8-tetrahidroindolizină și indolizină sunt în special preferate.

- 20 În compuşii preferați ai invenției, T reprezintă un atom de hidrogen, o grupare metil (și în special (R)-metil), o grupare 2-(morfolin-4-il)etil, 3-(morfolin-4-il)propil, -CH₂-OH, 2-aminoetil, 2-(3,3-difluoropiperidin-1-il)etil, 2-[(2,2-difluoretil)amino]etil sau 2-(3-metoxiazetidină-1-il)etil.

- De preferință, R_a și R_d reprezintă fiecare un atom de hidrogen și (R_b,R_c), împreună cu atomii de carbon care îi poartă, formează o grupare 1,3-dioxolan sau o grupare 1,4-dioxan; sau R_a, R_c și R_d reprezintă fiecare un atom de hidrogen și R_b reprezintă hidrogen, halogen, metil sau metoxi; sau R_a, R_b și R_d reprezintă fiecare un atom de hidrogen și R_c reprezintă o grupare hidroxi sau metoxi. Chiar mai preferabil, R_a și R_d reprezintă fiecare un atom de hidrogen și (R_b,R_c), împreună cu atomii de carbon care îi poartă, formează o grupare 1,3-dioxolan; sau R_a, R_c și R_d reprezintă fiecare un atom de hidrogen și R_b reprezintă un halogen.

Se acordă preferință grupării R_d, care este 4-hidroxifenil.

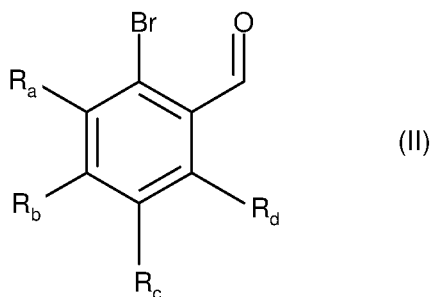
- 30 În compuşii preferați ai invenției, R₃ reprezintă o grupare alchil (C₁-C₆), aril sau heteroaril, liniară, fiind posibil ca ultimele două grupări să fie substituite cu una-trei grupări selectate dintre halogen, alchil (C₁-C₆) liniar sau ramificat, alcoxi(C₁-C₆) liniar sau ramificat, ciano și heterocicloalchil-alchil(C₁-C₆) liniar sau ramificat, în care fragmentul alchil este liniar sau ramificat. Chiar și mai preferabil, R₃ reprezintă o grupare heteroaril, selectată din următoarea grupă: 1H-indol, 2,3-dihidro-1H-indol, 1H-indazol, piridină, 1H-pirol[2,3-b]piridină, 1H-pirazol, imidazo[1,2-a]piridină, pirazolo[1,5-a]pirimidină, [1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidină, și 1H-pirazolo[3,4-b]piridină, fiind posibil ca toate să fie substitute cu o grupare alchil(C₁-C₆) liniară sau ramificată.

Compușii preferați conform invenției sunt incluși în următoarea grupă:

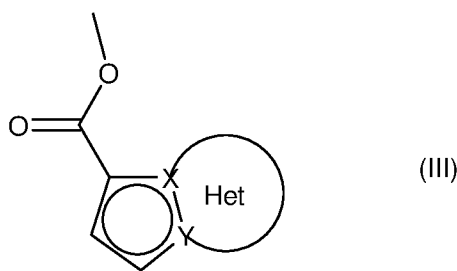
- 40 - N-(4-hidroxifenil)-3-(6-{[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil}-1,3-benzodioxol-5-il)-N-{1-[2-(morfolin-4-il)etil]-1H-indol-5-il}-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă,
 - N-(4-hidroxifenil)-3-(6-{[(3S)-3-[2-(morfolin-4-il)etil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil}-1,3-benzodioxol-5-il)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă,
 45 - N-{3-fluoro-4-[2-(morfolin-4-il)etoxi]fenil}-N-(4-hidroxifenil)-3-(6-{[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil}-1,3-benzodioxol-5-il)indolizină-1-carboxamidă,
 - N-(4-hidroxifenil)-3-(6-{[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil}-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(piridin-4-il)indolizină-1-carboxamidă,
 50 - N-(4-hidroxifenil)-3-(6-{[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil}-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(2-metilpiridin-4-il)indolizină-1-carboxamidă,

- N-(4-hidroxifenil)-3-(6-{[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil}-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(1-metil-1H-pirol[2,3-b]piridin-5-il)indolizină-1-carboxamidă,
- 5 - N-(4-hidroxifenil)-3-(6-{[(3R)-3-[3-(morfolin-4-il)propil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil}-1,3-benzodioxol-5-il)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă,
- N-(2,6-dimetilpiridin-4-il)-N-(4-hidroxifenil)-3-(6-{[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil}-1,3-benzodioxol-5-il)indolizină-1-carboxamidă,
- 10 - N-(4-hidroxifenil)-3-(6-{[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil}-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(piridin-4-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă,
- 3-(5-clor-2-{[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil}fenil)-N-(4-hidroxifenil)-N-(1-metil-1H-pirol[2,3-b]piridin-5-il)indolizină-1-carboxamidă,
- N-(4-hidroxifenil)-N-(2-metoxipiridin-4-il)-3-(6-{[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil}-1,3-benzodioxol-5-il)indolizină-1-carboxamidă,
- 15 enantiomerii și diastereoizomerii lor, și sărurile de adiție ale acestora cu un acid sau o bază acceptabilă farmaceutic.

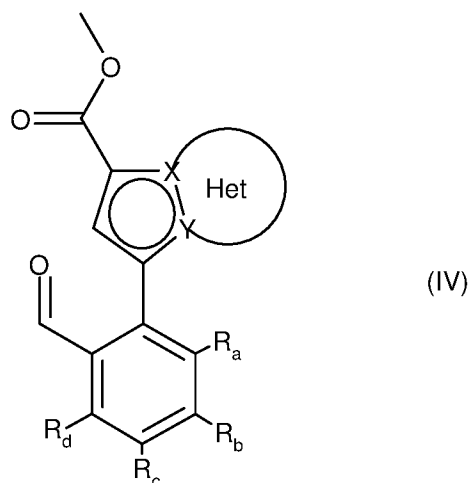
Invenția se referă, de asemenea, la un procedeu de obținere a compușilor cu formula (I),
 20 procedeul dat fiind caracterizat prin aceea că în calitate de material inițial se utilizează compusul cu formula (II):



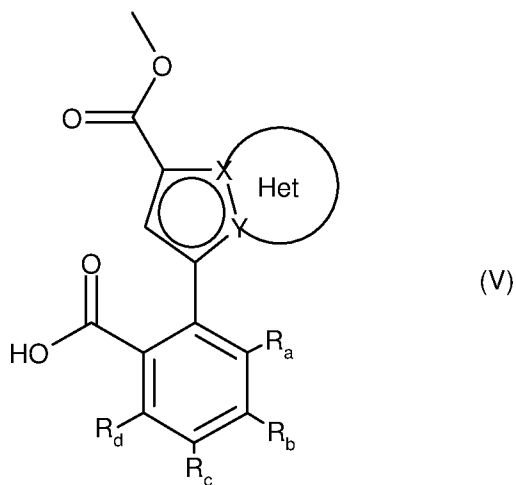
in care R_a , R_b , R_c și R_d au definițiile ca pentru formula (I),
 25 compusul cu formula (II) fiind supus unei reacții Heck, într-un mediu apos sau organic, în prezența unui catalizator de paladiu, unei baze, unei fosfine și a compusului cu formula (III):



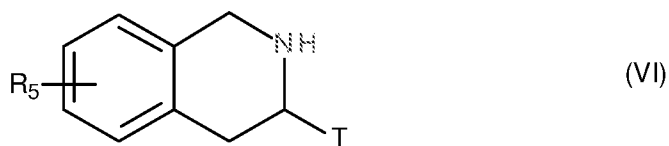
in care grupările X, Y și Het au definițiile ca pentru formula (I),
 30 pentru a obține compusul cu formula (IV):



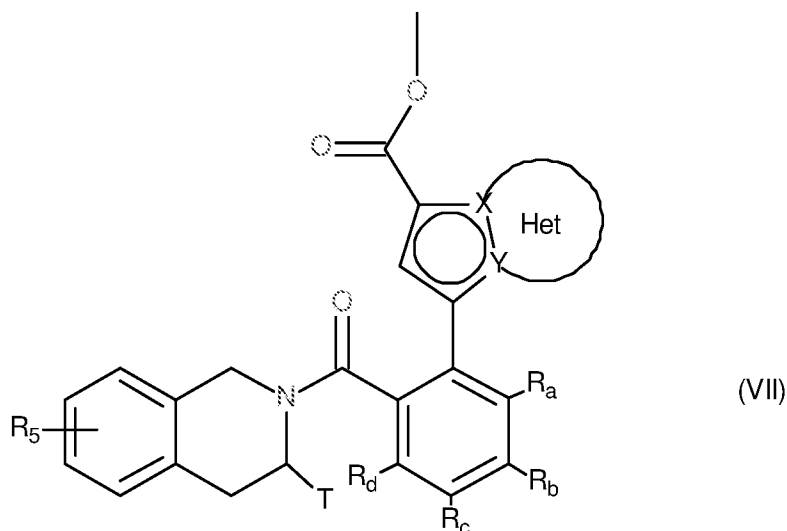
5 în care R_a , R_b , R_c , R_d , X, Y și Het au definițiile ca pentru formula (I),
 funcția aldehydă a compusului cu formula (IV) fiind oxidată până la acidul carboxilic pentru a
 forma compusul cu formula (V):



10 în care R_a , R_b , R_c , R_d , X, Y și Het au definițiile ca pentru formula (I),
 compusul cu formula (V) fiind apoi supus cuplării peptidice cu un compus cu formula (VI):



în care T și R_5 au definițiile ca pentru formula (I),
 pentru a obține compusul cu formula (VII):



in care R_a , R_b , R_c , R_d , T , R_5 , X , Y și Het au definițiile ca pentru formula (I),

funcția ester a compusului cu formula (VII) este hidrolizată pentru a se obține acidul carboxilic sau carboxilatul corespunzător, care poate fi transformat într-un derivat de acid, cum ar fi clorura de acil sau anhidrida corespunzătoare înainte de a fi cuplat cu o amină NHR_3R_4 , în care R_3 și R_4 au aceleași semnificații ca pentru formula (I), pentru a se obține compusul cu formula (I),

compusul cu formula (I) poate fi purificat conform unei tehnici de separare obișnuite, care este transformat, la dorință, în sărurile sale de adiție cu un acid sau o bază acceptabilă farmaceutic și care este opțional separat în izomerii săi conform unei tehnici de separare obișnuite, înțelegându-se că în orice moment considerat oportun în cursul procedurii descris mai sus, anumite grupări (hidroxi, amino ...) de reactivi sau intermediari de sinteză pot fi protejate și apoi deprotejate în conformitate cu cerințele de sinteză.

Mai exact, atunci când una dintre grupările R_3 sau R_4 ale aminei NHR_3R_4 este substituită cu o funcție hidroxi, aceasta din urmă poate fi supusă în prealabil unei reacții de protejare înainte de orice cuplare cu acidul carboxilic format din compusul cu formula (VII), sau cu un derivat al acidului corespunzător al acestuia, compusul rezultat protejat cu formula (I) este supus ulterior unei reacții de deprotejare și apoi este transformat opțional în una din sărurile sale de adiție cu un acid sau o bază acceptabilă farmaceutic.

Compușii cu formulele (II), (III), (VI) și amina NHR_3R_4 sunt disponibili comercial sau pot fi obținuți de către specialistul în domeniu prin reacții chimice obișnuite descrise în literatură.

Studiul farmacologic al compuşilor din invenție a arătat că aceștia posedă proprietăți pro-apoptotice. Capacitatea de a reactiva procesul apoptotic în celulele canceroase reprezintă un interes terapeutic major în tratamentul formelor de cancer, bolilor autoimune și bolilor sistemului imunitar.

În special, compușii conform invenției vor fi utili în tratamentul formelor de cancer rezistente la chimio- sau radioterapie, și în hemopatiile maligne și cancerul pulmonar cu celule mici.

Printre tratamentele formelor de cancer prevăzute pot fi menționate, fără a se limita la cancerul de vezică urinară, cancerul cerebral, mamar și de uter, leucemiile limfoide cronice, cancerul colorectal, formele de cancer de esofag și ficat, leucemiile limfoblastice, limfoamele non-Hodgkin, melanoamele, hemopatiile maligne, mieloamele, cancerul ovarian, cancerul pulmonar altul decât cu celule mici, cancerul de prostată și cancerul pulmonar cu celule mici. Printre limfoamele non-Hodgkin pot fi menționate, mai preferabil, limfoamele foliculare, limfoamele cu celule de manta, limfoamele difuze cu celule mari B, limfoamele limfocitare mici și limfoamele zonei marginale cu celule B.

Prezenta invenție se referă, de asemenea, la compoziții farmaceutice care cuprind, cel puțin, un compus cu formula (I), în combinație cu unul sau mai mulți excipienți acceptabili farmaceutic.

Printre compozițiile farmaceutice conform invenției pot fi menționate, în mod special, cele care sunt adecvate pentru administrarea orală, parenterală, nazală, per- sau transcutanată, rectală, perlinguală, oculară sau respiratorie, în special comprimatele sau drajeurile, comprimatele sublinguale, săculețele, pliculețele, capsulele, comprimatele sublinguale cu dizolvare lentă

(glossettes), dropsurile, supozitoarele, cremele, unguentele, gelurile dermice, și fiolele buvabile sau injectabile.

Doza variază în funcție de sexul, vârsta și greutatea pacientului, calea de administrare, natura indicației terapeutice, sau orice tratamente asociate, și variază între 0,01 mg și 1 g în 24 ore în una sau mai multe administrări.

Pe lângă aceasta, prezenta invenție se referă, de asemenea, la asocierea unui compus cu formula (I) cu un agent anticanceros selectat dintre agenții genotoxici, toxinele mitotice, anti-metaboliți, inhibitorii de proteazom, inhibitorii de kinază și anticorpi, și, de asemenea, la compoziții farmaceutice care cuprind acest tip de asociere și utilizarea acestora în fabricarea medicamentelor pentru utilizarea în tratamentul cancerului.

Compușii din invenție pot fi, de asemenea, utilizați în asociere cu radioterapia în tratamentul cancerului.

În cele din urmă, compușii din invenție pot fi atașați de anticorpi monoclonali sau fragmentele acestora sau pot fi atașați de proteinele de eșafodaj, care pot sau nu pot fi asociate cu anticorpii monoclonali.

Prin fragmentele de anticorpi se va înțelege fragmente de tip Fv, scFv, Fab, F(ab')₂, F(ab'), scFv-Fc sau diacorpi, care au, în general, același caracter specific de legare ca și anticorpii din care provin. Conform prezentei invenții, fragmentele de anticorpi din invenție pot fi obținute pornind de la anticorpi prin metode cum ar fi digestia prin enzime, cum ar fi pepsina sau papaina, și/sau prin clivajul punților disulfurice prin reducere chimică. În alt mod, fragmentele de anticorpi cuprinse în prezenta invenție pot fi obținute, de asemenea, prin tehnici de recombinare genetică, care, la fel, sunt bine cunoscute unui specialist în domeniu sau altfel prin sinteza peptidelor cu ajutorul, de exemplu, sintetizatoarelor automate de peptide, cum ar fi cele furnizate de compania Applied Biosystems, etc.

Prin proteinele de eșafodaj care pot fi atașate sau nu de anticorpii monoclonali se va înțelege o proteină care conține sau nu o aranjare a lanțului de imunoglobuline și care oferă o capacitate de atașare similară unui anticorp monoclonal. Un specialist în domeniu știe cum să selecteze eșafodajul proteic. În special, este cunoscut faptul că, pentru a fi selectat, un asemenea eșafodaj trebuie să posede mai multe caracteristici, după cum urmează (Skerra A., J. Mol. Recogn., 13, 2000, 167-187): conservare filogenetică bună, arhitectură robustă cu o organizare moleculară tridimensională bine cunoscută (cum ar fi, de exemplu, cristalografia sau RMN), dimensiuni mici, fără sau doar un grad redus de modificări post-tranlaționale, ușor în producere, exprimare și purificare. Un asemenea eșafodaj proteic poate fi, dar fără limitare, o structură selectată din grupul ce constă din fibronectină și, de preferință, domeniul zece al fibronectinei de tip III (FNfn10), lipocalin, anticalin (Skerra A., J. Biotechnol., 2001, 74(4):257-75), derivatul proteinei Z din domeniul B al proteinei stafilococice A, tioredoxina A sau orice proteină cu un domeniu repetat cum ar fi o "repetare ankirină" (Kohl et al, PNAS, 2003, vol.100, nr. 4, 1700-1705), "repetare armadillo", "repetare bogată în leucină" sau "repetare tetratricopeptidă". De asemenea, poate fi menționat un derivat de eșafodaj din toxine (cum ar fi, de exemplu, toxine de scorpion, de insecte, de plante sau moluște) sau inhibitori proteici ai sintezei neuronale a oxidului nitric (PIN).

Următoarele procedee de obținere și exemple ilustrează invenția fără a o limita.

Proceduri generale

Toți reactivii și solvenții anhidri sunt obținuți din surse comerciale și au fost folosiți fără purificarea sau uscarea ulterioară. Cromatografia rapidă s-a efectuat cu un aparat ISCO CombiFlash Rf 200i cu cartușe de silicagel pre-ambalate (Siliasep™ F60 (40-63μm, 60Å). Cromatografia în strat subțire a fost realizată cu plăci de 5 x 10 cm, acoperite cu silicagel de tip Merck 60 F₂₅₄. S-a efectuat încălzirea cu microunde cu un aparat CEM Discover® SP.

Cromatografia lichidă (CL) – spectrometria de masă (SM) analitică

Compușii conform invenției au fost caracterizați prin cromatografia lichidă de înaltă performanță cuplată cu spectroscopia de masă (CLIP-SM) cu un aparat cu rezoluție rapidă Agilent HP1200 cuplat cu un detector de masă 6140 cu o sursă multimod (un interval m/z (raportul masă/sarcină) între 150 și 1000 unități de masă atomică sau amu) sau un aparat Agilent HP1100 cuplat cu un detector de masă 1946D cu o sursă de ionizare prin pulverizare (un interval m/z între 150 și 1000 amu). Condițiile și metodele enumerate mai jos sunt identice pentru ambele aparate.

Detectarea: Detectarea UV la 230, 254 și 270 nm.

Volumul de injectare: 2μl

Fazele mobile: A - Apă + 10 mMol / formiat de amoniu + 0,08% (v/v) acid formic la pH circa 3,5.

B - 95% Acetonitril + 5% A + 0,08% (v/v) acid formic

Procedul A (3,75 min; fie ionizare pozitivă (poz) sau pozitivă și negativă (poz/neg)Coloana: Gemini 5 μ m, C18, 30 mm x 4,6 mm (Phenomenex).

Temperatura: 35°C.

Gradientul:

5

10

15

Timpul (min)	Solventul A (%)	Solventul B (%)	Fluxul (ml/min)
0	95	5	2
0,25	95	5	2
2,50	95	5	2
2,55	5	95	3
3,60	5	95	3
3,65	5	95	2
3,70	95	5	2
3,75	95	5	2

Procedul B (1,9 min; fie ionizare pozitivă (poz) sau pozitivă și negativă (poz/neg)Coloana: Gemini 5 μ m, C18, 30 mm x 4,6 mm (Phenomenex).

Temperatura: 35°C.

Gradientul:

20

Timpul (min)	Solventul A (%)	Solventul B (%)	Fluxul (ml/min)
0	95	5	1,1
0,12	95	5	1,1
1,30	5	95	1,1
1,35	5	95	1,7
1,85	5	95	1,7
1,90	5	95	1,1
1,95	95	5	1,1

Procedul de obținere 1: Acidul 6-[1-(metoxycarbonil)-5,6,7,8-tetrahidro-3-indolizinil]-1,3-benzodioxol-5-carboxilic**Etapa A: Acidul 1-formil-2-piperidină-carboxilic**

25

La o soluție de 40 g de amestec racemic de acid 2-piperidină-carboxilic (0,310 mmol) în 300 ml de acid formic plasat la 0°C se adaugă, prin picurare, 200 ml (2,15 mmol) de anhidridă acetică. Amestecul se agită apoi la temperatura ambiantă timp de o noapte. Ulterior amestecul de reacție se răcește până la 0°C, se hidrolizează prin adăugarea a 250 ml de apă, și se agită timp de o jumătate de oră la 0°C înainte de a fi concentrat până la uscare. Uleiul astfel obținut se prelevă în 200 ml de metanol și apoi se concentrează până la uscare. Produsul indicat în titlu este obținut sub formă de ulei cu un randament de 98%. Acesta se folosește direct în următoarea etapă, fără a fi purificat în alt mod.

30

RMN ¹H: δ (400 MHz; dmsd-d₆; 300K): 13,0 (m, 1H OH); 8,0-8,05 (2s, 1H aldehydă); 4,9-4,5 (2d, 1H α față de N și COOH); 4,1-2,6 (m, 2H α față de N); 2,2-1,2 (m, 6H piperidină)

35

IR: ν : -OH: 2000-3000 cm⁻¹ acid; ν : >C=O 1703 cm⁻¹ bandă largă**Etapa B: 5,6,7,8-tetrahidro-1-indolizină-carboxilat de metil**

35

La o soluție de 10 g de acid carboxilic obținut în Etapa A (63,6 mmol) în 65 ml de diclorometan se adaugă succesiv 13,4 g de clorură de tosil (70,4 mmol), 11,5 ml de 2-cloracrilat de metil (113,5 mmol) și apoi, prin picurare, 17,8 ml de N,N,N-trietilamină (127,2 mmol). Amestecul de reacție este apoi încălzit la reflux timp de 1 oră și 30 minute. Ulterior acesta se pune la temperatura ambiantă, și apoi se adaugă 5 ml de 2-cloracrilat de metil (48,9 mmol) și, prin picurare, 9 ml de N,N,N-trietilamină (64 mmol). Amestecul este încălzit la reflux timp de o noapte.

40

Amestecul de reacție este apoi diluat cu clorură de metilen, spălat succesiv cu soluție de HCl 1N, soluție saturată de NaHCO₃ și apoi cu soluție saturată de NaCl până la obținerea unui pH neutru. Faza organică se usucă ulterior pe MgSO₄, se filtrează, se concentrează până la uscare și se purifică prin cromatografia pe silicagel (gradient heptan/AcOEt). Produsul din titlu este obținut sub formă de ulei.

45

RMN ^1H : δ : (400 MHz; CDCl_3 ; 300K): 6,55-6,40 (d, 2H, tetrahydroindolizină); 3,91 (t, 3H ester metilic); 3,78 (s, 3H tetrahydroindolizină); 3,08 (t, 2H, tetrahydroindolizină); 1,95-1,85 (m, 4H, tetrahydroindolizină)

IR: ν : $>\text{C}=\text{O}$ 1692 cm^{-1} ester

5 **Etapa C: 3-(6-Formil-1,3-benzodioxol-5-il)-5,6,7,8-tetrahidro-1-indolizină-carboxilat de metil**

La o soluție de 6,4 g de ester obținut în Etapa B (35,7 mmol) în 12 ml de N,N-dimetilacetamidă se adaugă succesiv 12,3 g de 6-brom-1,3-benzodioxol-5-carbaldehidă (53,6 mmol) și 7 g de acetat de potasiu (71,4 mmol), și apoi amestecul se agită sub argon timp de 20 de minute. Apoi se adaugă 10 1,3 g de catalizator de paladiu $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (1,8 mmol). Amestecul de reacție este apoi încălzit la 130°C timp de o oră înainte de adăugarea a 139 μl de H_2O la acesta. Se menține încălzirea la aceeași temperatură timp de o noapte. Se lasă amestecul să revină la temperatura ambiantă și apoi se diluează cu AcOEt. Se adaugă cărbune de origine animală (2 g per g de produs) și amestecul se agită la temperatura ambiantă timp de 1 oră și apoi se filtrează. Faza organică se spală apoi cu apă, 15 se usucă pe sulfat de magneziu și se concentrează până la uscare. Produsul brut astfel obținut se purifică prin cromatografie pe silicagel (gradient heptan/ACOEt). Produsul din titlu este obținut sub formă de ulei.

RMN ^1H : δ : (400 MHz; $\text{dmsO}-d_6$; 353°K): 9,65 (s, 1H, H aldehydă); 7,3-7,15 (2s, 2H, H aromatici); 6,45 (s, 1H tetrahydroindolizină); 6,20 (s, 2H metilenedioxi); 3,70 (s, 3H ester metilic); 20 3,5-4,0 (m, 2H tetrahydroindolizină); 3,05 (m, 2H tetrahydroindolizină); 1,85 (m, 4H tetrahydroindolizină)

IR: ν : $>\text{C}=\text{O}$ 1695 cm^{-1} ester; ν : $>\text{C}=\text{O}$ 1674 cm^{-1}

Etapa D: Acidul 6-[1-(metoxycarbonil)-5,6,7,8-tetrahidro-3-indolizinil]-1,3-benzodioxol-5-carboxilic

25 Se prepară o soluție ce conține 3,37 g de compus obținut în Etapa C (10,3 mmol) în 9,3 ml de acetonă și 8,8 ml (80,24 mmol) de 2-metil-2-butenă și se pune la 0°C. La aceasta se adaugă, prin picurare, 9,3 ml de soluție apoasă care conține un amestec de 3,3 g de NaClO_2 (36,05 mmol) și 3,6 g de Na_2PO_4 (25,75 mmol). Apoi amestecul se agită la temperatura ambiantă timp de 7 ore. Ulterior amestecul de reacție se concentrează pentru a înlătura acetona. Solidul obținut se filtrează, 30 se spală cu apă și apoi se usucă la 40°C sub vid timp de o noapte. Produsul din titlu este obținut sub formă de solid, care se utilizează ulterior fără a fi purificat în alt mod.

RMN ^1H : δ (400 MHz; $\text{dmsO}-d_6$; 300K): 12,10 (m, 1H, H acid carboxilic); 7,40-6,88 (2s, 2H, H aromatici); 6,20 (s, 1H tetrahydroindolizină); 6,18 (s, 2H metilendioxi); 3,70 (s, 3H, ester metilic); 3,55 (t, 2H tetrahydroindolizină); 3,00 (t, 2H tetrahydroindolizină); 1,80 (m, 4H, H 35 tetrahydroindolizină)

IR: ν : -OH: 3000-2000 cm^{-1} acid; ν : $>\text{C}=\text{O}$ 1686-1676 cm^{-1} ester+acid; ν : $>\text{C}=\text{C}<$ 1608 cm^{-1}

Procedeele de obținere 2: Acidul 2-[2-(terț-butoxicarbonil)-8-(metoxycarbonil)-1,2,3,4-tetrahidropirolol[1,2-a]pirazin-6-il]-4-clorobenzoic

Etapa A: 3-metil 4-formil-1,3-piperazinădicarboxilat de 1-terț-butil

40 La o soluție de pentafluorfenol în 520 ml de eter anhidru plasat la 0°C se adaugă succesiv 49 g de 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)-carbodiimidă (286 mmol) în porții și 12 ml de acid formic (312 mmol). Amestecul se agită la temperatura ambiantă timp de 2 ore. Ulterior se adaugă un amestec de 32 g de 3-metil 1,3-piperazinădicarboxilat de 1-terț-butil (130 mmol) și 18 ml de trietilamină (130 mmol) dizolvată în 520 ml de CH_2Cl_2 . Amestecul se agită timp de o noapte la temperatura 45 ambiantă. Amestecul de reacție se hidrolizează cu soluție apoasă de HCl 1N și se extrage cu CH_2Cl_2 . Ulterior fazele organice se combină, după care se spală cu soluție apoasă saturată de NaHCO_3 și apoi cu soluție apoasă saturată de NaCl până la neutralitate. După uscarea pe MgSO_4 , filtrarea și concentrarea până la uscare, produsul este izolat prin cromatografie pe silicagel (gradient eter de petrol / AcOEt: 0-30%). Produsul din titlu este obținut sub formă de ulei.

50 IR: ν : $\text{C}=\text{O}$: 1674-1745 cm^{-1}

m/z ($\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5$): 272,1(M $^+$); 295,121 (M+Na) $^+$; 567,253 (2M+Na) $^+$

Etapa B: 4-(terț-Butoxicarbonil)-1-formil-2-piperazinăcarboxilat de litiu

La o soluție de 28 g de compus obținut în Etapa A (103 mmol) în 515 ml de dioxan se adaugă 4,8 g de LiOH (113 mmol) dizolvat în 100 ml de H_2O . Amestecul se agită la temperatura ambiantă 55 timp de 4 ore. Amestecul de reacție este apoi concentrat până la uscare și apoi este co-evaporat de câteva ori cu acetat de etil. Produsul din titlu este obținut sub formă de solid și este folosit direct în următoarea etapă de ciclizare.

RMN ^{13}C : δ (500 MHz; $\text{dmsO}-d_6$; 300K): 46 (s, C piperazină); 42-38 (m, C piperazină); 58-53 (s, C piperazină); 28,5 (s, C ^1Bu)

IR: ν : C=O: 1650 cm^{-1} ; 2800 cm^{-1}

Etapa C: 8-metil 3,4-dihidropirol[1,2-a]pirazină-2,8(1H)-dicarboxilat de 2-terț-butil

La o suspensie de 29 g de compus obținut în Etapa B (103 mmol) în 800 ml de diclormetan se adaugă succesiv 24 g de clorură de tosil (124 mmol), 12,6 ml de 2-cloroacrilat de metil (124 mmol) și apoi 35 ml de trietilamină (247 mmol). Amestecul se agită la reflux timp de 2 ore. După răcire, amestecul de reacție se diluează cu acetat de etil și faza organică se spală cu soluție saturată de NaCl până la neutralitate. După uscarea pe MgSO_4 , filtrarea și concentrarea până la uscare, produsul din titlu se izolează prin cromatografie pe silicagel (gradient eter de petrol / AcOEt: 0-20%) sub formă de solid.

RMN ^1H : δ (400 MHz; dms O - d_6 ; 300K): 6,8-6,43 (m, 2H, H pirol); 4,75-3,75 (m, 6H, H piperazină); 3,73 (s, 3H, H COOCH_3); 1,48 (s, 9H, H ^tBu)

IR: ν : C=O (ester conjugat): 1712 cm^{-1} ; C=O (carbamat): 1677 cm^{-1}

Etapa D: Acidul 2-[2-(terț-Butoxicarbonil)-8-(metoxycarbonil)-1,2,3,4-tetrahidropirol[1,2-a]pirazin-6-il]-4-clorobenzoic

Procedura este în conformitate cu protocolul descris în Etapele C și D ale Procedurii de obținere 1, substituind 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carbaldehida folosită în Etapa C cu 2-bromo-4-clorobenzaldehidă.

Procedul de obținere 3: Acidul 4-cloro-2-[1-(metoxycarbonil)-5,6,7,8-tetrahidro-3-indolizininil]benzoic

Procedura este în conformitate cu Procedul de obținere 1, substituind 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carbaldehida folosită în Etapa C cu 2-bromo-4-clorobenzaldehidă.

Procedul de obținere 4: Acidul 7-[2-(terț-Butoxicarbonil)-8-(metoxycarbonil)-1,2,3,4-tetrahidropirol[1,2-a]pirazin-6-il]-2,3-dihidro-1,4-benzodioxină-6-carboxilic

Etapa A: 8-metil 3,4-dihidropirol[1,2-a]pirazină-2,8(1H)-dicarboxilat de 2-terț-butil

Procedura este în conformitate cu procedul descris în Etapele A-C ale Procedurii de obținere 2.

RMN ^1H : δ (400 MHz; dms O - d_6 ; 300K): 6,8-6,43 (m, 2H, H pirol); 4,75-3,75 (m, 6H, H piperazină); 3,73 (s, 3H, H COOCH_3); 1,48 (s, 9H, H ^tBu)

IR: ν : C=O (ester conjugat): 1712 cm^{-1} ; C=O (carbamat): 1677 cm^{-1}

Etapa B: Acidul 7-[2-(terț-butoxicarbonil)-8-(metoxycarbonil)-1,2,3,4-tetrahidropirol[1,2-a]pirazin-6-il]-2,3-dihidro-1,4-benzodioxină-6-carboxilic

Procedura este în conformitate cu protocolul descris în Etapele C și D ale Procedurii de obținere 1, substituind 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carbaldehida folosită în Etapa C cu 7-bromo-2,3-dihidro-1,4-benzodioxină-6-carbaldehidă.

Procedul de obținere 5: Acidul 4-cloro-2-[1-(metoxycarbonil)-3-indolizininil]benzoic

Etapa A: Bromură de 1-(carboximetil)-1,2-dihidropiridiniu

La o soluție de 16,2 ml de piridină (200 mmol) în 120 ml de acetat de etil se adaugă, în porții, 27,8 g (200 mmol) de acid bromoacetic. Amestecul se agită apoi la temperatura ambiantă timp de o noapte. Precipitatul astfel obținut se filtrează și apoi se spală cu acetat de etil rece. După uscare, produsul din titlu este obținut sub formă de pudră, care este utilizată direct în următoarea etapă.

RMN ^1H : δ (400 MHz; dms O - d_6 ; 300K): 9,15 (d, 2H, H aromatici piridină); 8,7 (t, 1H, H aromatic); 8,25 (t, 2H, H aromatic); 5,65 (s, 2H, H CH_2COOH)

IR: ν : C=O: 1732 cm^{-1} ; -OH acid: 2800 cm^{-1}

Etapa B: 1-Indolizincarboxilat de metil

La o suspensie de 6,55 g de sare de piridiniu obținută în Etapa A (30 mmol) în 240 ml de toluen se adaugă succesiv 16,7 ml de acrilat de metil (150 mmol), 4,2 ml de trietilamină (30 mmol) și apoi, în porții, 20,9 g de MnO_2 (240 mmol). Amestecul este apoi încălzit la 90°C timp de 3 ore. După răcire, amestecul de reacție se filtrează printr-un strat de celită și se concentrează până la uscare. Produsul din titlu se izolează apoi prin purificare pe silicagel (gradient heptan / AcOEt: 0-10%) sub formă de ulei, care se cristalizează în stare rece.

RMN ^1H : δ (300 MHz; dms O - d_6 ; 300K): 8,5 (d, 1H, H indolizină); 8,05 (d, 1H, H indolizină); 7,6 (s, 1H, H indolizină); 7,15 (m, 2H, H indolizină); 6,85 (m, 1H, H indolizină); 4,25 (q, 2H, -C(O) CH_2CH_3); 1,35 (t, 3H, -C(O) CH_2CH_3)

IR: ν : C=O ester: 1675 cm^{-1} ; fragmente C=C aromatice: 1634 cm^{-1}

Etapă C: Acidul 4-cloro-2-[1-(metoxycarbonil)-3-indolizinil]benzoic

Procedura este în conformitate cu protocolul descris în Etapele C și D ale Procedurii de obținere 1, substituind 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carbaldehida folosită în Etapa C cu 2-bromo-4-clorobenzaldehidă.

5 **Procedeu de obținere 6: Acidul 2-[2-(terț-butoxicarbonil)-8-(metoxycarbonil)-1,2,3,4-tetrahidropirol[1,2-a]pirazin-6-il]-4-fluorobenzoic**

Procedura este în conformitate cu protocolul descris în Procedeu de obținere 2, substituind 2-bromo-4-clorobenzaldehida utilizată în Etapa D cu 2-bromo-4-fluorobenzaldehidă.

10 **Procedeu de obținere 7: Acidul 6-[2-(terț-butoxicarbonil)-8-(metoxycarbonil)-1,2,3,4-tetrahidropirol[1,2-a]pirazin-6-il]-1,3-benzodioxol-5-carboxilic**

Procedura este în conformitate cu protocolul descris în Procedeu de obținere 2, substituind 2-bromo-4-clorobenzaldehida utilizată în Etapa D cu 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carbaldehidă.

Procedeu de obținere 8: Acidul 6-[1'-(metoxycarbonil)-5',6'-dihidro-8'H-spiro[1,3-dioxolan-2,7'-indolizin]-3'-il]-1,3-benzodioxol-5-carboxilic

15 **Etapă A: 8-formil-1,4-dioxa-8-azaspiro[4,5]decan-7-carboxilat de metil**

Se dizolvă 24 g de 1,4-dioxa-8-azaspiro[4,5]decan-9-carboxilat de metil (111 mmol) în 80 ml de acetat de etil și 80 ml de diclormetan. Se adaugă 26 g de (4-nitrofenil)formiat (155 mmol) și amestecul se agită la temperatura ambiantă timp de o oră. Amestecul de reacție se evaporă până la uscare și se prelevă în acetat de etil. Faza organică se spală apoi succesiv cu o soluție de NaOH 1N, apă, și apoi cu o soluție saturată de NH₄Cl până la obținerea unui pH neutru. Apoi aceasta se usucă pe sulfat de magneziu, se filtrează și se concentrează până la uscare. Uleiul astfel obținut se purifică prin cromatografia rapidă (gradient heptan/acetat de etil). Produsul din titlu este obținut sub formă de ulei.

25 RMN ¹H: δ (400 MHz; dmsd-d6; 300K): 8,15 (s, 1H, CHO); 5,0-4,75 (m, 1H, H terțiar); 4,3-3,7 (m, 5H, 4H etilendioxi + 1H piperidină alifatică); 3,70 (s, 3H, Me); 3,4-2,9 (2m, 1H, H piperidină alifatică); 2,3-1,75 (m, 2H, H piperidină alifatică); 1,7-1,5 (m, 2H, H piperidină alifatică)

Etapă B: Acidul 8-formil-1,4-dioxa-8-azaspiro[4,5]decan-7-carboxilic

30 Se dizolvă 15,25 g de compus obținut în Etapa A (62,7 mmol) în 160 ml de dioxan. Se adaugă, prin picurare, o soluție de 125 ml de KOH 1M și amestecul se agită la temperatura ambiantă timp de o oră. Ulterior se adaugă 125 ml de HCl 1M, și se extrage compusul cu diclormetan. Faza organică se usucă pe MgSO₄, se filtrează și se concentrează până la uscare. Produsul din titlu este obținut sub formă de pudră.

35 RMN ¹H: δ (400 MHz; dmsd-d6; 300K) 13,5-12 (m, 1H, OH); 8,1 + 8,0 (2s, 1H, CHO); 4,9 + 4,6 (2m, 1H, H terțiar); 4,0-3,8 (m, 4H, etilendioxi); 4,2 + 3,7 (2ms, 1H, H piperidină alifatică); 3,4 + 2,9 (2m, 1H, H piperidină alifatică); 2,4-1,5 (m, 4H, H piperidină alifatică)

IR: ν: OH: 3500-2000 cm⁻¹; -C=O (acid + aldehydă): 1731 + 1655 cm⁻¹

Etapă C: 5',6'-Dihidro-8'H-spiro[1,3-dioxolan-2,7'-indolizină]-1'-carboxilat de metil

40 La o soluție de 13,5 g (62,7 mmol) de acid obținut în Etapa B în 380 ml de diclormetan se adaugă succesiv 39,5 ml (238,4 mmol) de trietilamină și apoi, în porții, 12,5 g (65,6 mmol) de clorură de para-toluensulfonil și 23,7 ml (238,4 mmol) de cloroacrilat de metil. Amestecul se agită la 80°C timp de 18 ore. Ulterior amestecul de reacție se filtrează pe celită. Filtratul se spală cu soluție saturată de NaHCO₃ și apoi cu soluție saturată de NH₄Cl. Faza organică se usucă pe MgSO₄, se filtrează și se concentrează până la uscare. Uleiul astfel obținut se purifică prin cromatografia rapidă (gradient heptan/acetat de etil). Produsul este obținut sub formă de solid.

45 RMN ¹H: δ (400 MHz; dmsd-d6; 300K) 6,70 (d, 1H, pirol); 6,40 (d, 1H, pirol); 4,05 (t, 2H, H alifatic, piperidină); 4,00 (m, 4H, etilendioxi); 3,70 (s, 3H, metil); 3,15 (s, 2H, H alifatic piperidină); 2,05 (t, 2H, H alifatic piperidină)

IR: ν:-C=O (ester):1689 cm⁻¹

50 **Etapă D: 3'-(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-5',6'-dihidro-8'H-spiro[1,3-dioxolan-2,7'-indolizină]-1'-carboxilat de metil**

Procedura este în conformitate cu procedeu din Etapa C a Procedurii de obținere 1.

Etapă E: Acidul 6-[1'-(metoxycarbonil)-5',6'-dihidro-8'H-spiro[1,3-dioxolan-2,7'-indolizin]-3'-il]-1,3-benzodioxol-5-carboxilic

55 Procedura este în conformitate cu procedeu din Etapa D a Procedurii de obținere 1.

Procedeul de obținere 9: Acidul 6-[1-(metoxycarbonil)-3-indolizininil]-1,3-benzodioxol-5-carboxilic

Procedura este în conformitate cu protocolul descris în Procedeul de obținere 5, substituind 2-bromo-4-clorobenzaldehida utilizată în Etapa C cu 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carbaldehidă.

Procedeul de obținere 10: Acidul 4-metil-2-[1-(metoxycarbonil)-5,6,7,8-tetrahidro-3-indolizininil]benzoic

Procedura este în conformitate cu protocolul descris în Procedeul de obținere 1, substituind 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carbaldehida folosită în Etapa C cu 2-bromo-4-metilbenzaldehidă.

Procedeul de obținere 11: Acidul 2-[1-(metoxycarbonil)-5,6,7,8-tetrahidro-3-indolizininil]benzoic

Procedura este în conformitate cu protocolul descris în Procedeul de obținere 1, substituind 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carbaldehida folosită în Etapa C cu 2-bromo-benzaldehidă.

Procedeul de obținere 12: Acidul 6-[8-(metoxycarbonil)pirolo[1,2-a]pirimidin-6-il]-1,3-benzodioxol-5-carboxilic**Etapa A: Pirolo[1,2-a]pirimidină-8-carboxilat de metil**

La o soluție de 6,2 g de 2-pirimidin-2-ilacetat de metil (40,75 mmol) în 250 ml de acetonă se adaugă succesiv 14,04 g (167 mmol) de NaHCO_3 sub formă de pudră, 13,2 ml (203,75 mmol) de cloroacetaldehidă și apoi 3,54 g (40,75 mmol) de bromură de litiu. Amestecul se încălzește la 60°C timp de 24 ore. Ulterior amestecul de reacție se concentrează până la uscare, se prelevă în acetat de etil, se spală cu apă, se usucă pe MgSO_4 , se filtrează și apoi se concentrează până la uscare. Solidul astfel obținut este apoi purificat prin cromatografie pe silicagel (AcOEt). Produsul estimat este obținut sub formă de ulei.

Spectru de masă:

Formula empirică: $\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2$

CL/SM: $m/z = [\text{M}+\text{H}]^+ = 177$

Etapa B: 6-(6-Formil-1,3-benzodioxol-5-il)pirolo[1,2-a]pirimidină-8-carboxilat de metil

La o soluție de 3,93 g de compus obținut în Etapa A (22,3 mmol) în 80 ml de dimetilacetamidă anhidră se adaugă 7,66 g (33,45 mmol) de 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carbaldehidă și 4,4 g (44,6 mmol) de acetat de potasiu. Amestecul este degazat sub azot timp de 15 minute. Apoi se adaugă 1,56 g (2,23 mmol) de catalizator $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_4$. Amestecul de reacție se încălzește la 130°C timp de 16 ore sub o atmosferă inertă. După uscare, reziduul se prelevă în diclormetan; amestecul se filtrează printr-un strat de celită și apoi filtratul se spală cu apă, se usucă pe MgSO_4 și se concentrează până la uscare. Solidul de culoare neagră este apoi supus cromatografiei pe silicagel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 5 %). Produsul estimat este obținut sub formă de solid.

Spectrul de masă:

Formula empirică: $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$

CL/SM: $m/z = [\text{M}+\text{H}]^+ = 325$

Etapa C: Acidul 6-[8-(metoxycarbonil)pirolo[1,2-a]pirimidin-6-il]-1,3-benzodioxol-5-carboxilic

La o soluție de 2,91 g (8,97 mmol) de aldehidă obținută în Etapa B în 140 ml de acetonă răcită până la 0°C se adaugă 2-metilbutenă și apoi, prin picurare, un amestec de 2,8 g (17,94 mmol) de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ și 2,84 g (31,4 mmol) de NaClO_2 dizolvat în 30 ml de apă. Amestecul se agită la temperatura ambiantă timp de 4 ore. Amestecul de reacție este apoi concentrat sub vid pentru a înlătura acetona, se plasează la 0°C și apoi se acidulează până la un pH = 2-3 prin adăugarea, prin picurare, a soluției de HCl 5N. Se observă formarea precipitatului, care se filtrează, se spală cu apă și apoi cu eter dietilic și se usucă sub vid.

RMN ^1H : δ (400 MHz; $\text{dmsO}-d_6$; 300K): 12,7 (m, 1H, COOH); 8,45 (d, 1H, aromatic H, H pirolo [1,2-a]pirimidină); 8,19 (d, 1H, H aromatic, H pirolo [1,2-a]pirimidină); 6,9 (dd, 1H, H aromatic, H pirolo [1,2-a]pirimidină); 7,51 (s, 1H, H aromatic); 7,21 (s, 1H, H aromatic); 7,07 (s, 1H, H aromatic); 6,2 (s, 2H, H alifatici, O-CH₂-O); 3,8 (s, 3H, H alifatici, COOCH₃)

IR: ν -OH-: 3300 - 1800 cm^{-1} ; ν -CO-: 1705 cm^{-1} , ν >C=C<: 1616 cm^{-1}

Procedeul de obținere 13: Acidul 4-metoxi-2-[1-(metoxycarbonil)-5,6,7,8-tetrahidro-3-indolizininil]benzoic

Procedura este în conformitate cu protocolul descris în Procedeul de obținere 1, substituind 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carbaldehida folosită în Etapa C cu 2-bromo-4-metoxibenzaldehidă.

Procedeul de obținere 14: Acidul 5-Metoxi-2-[1-(metoxycarbonil)-5,6,7,8-tetrahidro-3-indolizininil]benzoic

Procedura este în conformitate cu protocolul descris în Procedeul de obținere 1, substituind 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carbaldehida folosită în Etapa C cu 2-bromo-5-metoxibenzaldehidă.

5 Procedeul de obținere 15: Acidul 7-[1-(metoxycarbonil)-5,6,7,8-tetrahidro-3-indolizininil]-2,3-dihidro-1,4-benzodioxină-6-carboxilic

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1, substituind 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carbaldehida folosită în Etapa C cu 7-bromo-2,3-dihidro-1,4-benzodioxină-6-carbaldehidă.

10 Procedeul de obținere 16: Acidul 2-[1-(metoxycarbonil)-3-indolizininil]benzoic

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 5, substituind 2-bromo-4-clorbenzaldehida utilizată în Etapa C cu 2-bromo-benzaldehidă.

Procedeul de obținere 17: Acidul 4-fluoro-2-[1-(metoxycarbonil)-3-indolizininil]benzoic

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 5, substituind 2-bromo-4-clorbenzaldehida utilizată în Etapa C cu 2-bromo-4-fluorobenzaldehidă.

15 Procedeul de obținere 18: Acidul 4-fluoro-2-[1-(metoxycarbonil)-5,6,7,8-tetrahidro-3-indolizininil]benzoic

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1, substituind 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carbaldehida utilizată în Etapa C cu 2-bromo-4-fluorobenzaldehidă.

20 Procedeul de obținere 1': Hidroclorură de (3R)-3-metil-1,2,3,4-tetrahidroizochinolină

Etapa A: {(3S)-2-[(4-metilfenil)sulfonyl]-1,2,3,4-tetrahidroizochinolin-3-il}metil 4-metilbenzensulfonat

La o soluție de 30,2 g de [(3S)-1,2,3,4-tetrahidroizochinolin-3-il]metanol (185 mmol) în 750 ml de diclormetan se adaugă succesiv 91,71 g de clorură de tosil (481 mmol) și apoi, prin picurare, 122,3 ml de N,N,N-trietilamină (740 mmol). Amestecul de reacție se agită apoi la temperatura ambiantă timp de 20 de ore. Apoi acesta este diluat cu diclormetan, spălat succesiv cu soluție de HCl 1M, soluție saturată de NaHCO₃ și apoi cu soluție saturată de NaCl până la neutralitate. Faza organică se usucă ulterior pe MgSO₄, se filtrează și se concentrează până la uscare. Solidul obținut este apoi dizolvat într-un volum minim de diclormetan și apoi se adaugă ciclohexan până la formarea unui precipitat. Acest precipitat se filtrează ulterior și se spală cu ciclohexan. După uscare, produsul din titlu este obținut sub formă de cristale.

RMN ¹H: δ (400 MHz; dmsd-d₆; 300K): 7,75 (d, 2H, H aromatici, orto O-tosil); 7,6 (d, 2H, H aromatici, orto N-tosil); 7,5 (d, 2H, H aromatici, meta O-tosil); 7,3 (d, 2H, H aromatici, meta N-tosil); 7,15-6,9 (m, 4H, H aromatici, tetrahidroizochinolină); 4,4-4,15 (dd, 2H, H alifatici, tetrahidroizochinolină); 4,25 (m, 1H, H alifatic, tetrahidroizochinolină); 4,0-3,8 (2dd, 2H, H alifatici, CH₂-O-tosil); 2,7 (2dd, 2H, H alifatici, tetrahidroizochinolină); 2,45 (s, 3H, O-SO₂-Ph-CH₃); 2,35 (s, 3H, N-SO₂-Ph-CH₃)

IR: ν: -SO₂: 1339-1165 cm⁻¹

Etapa B: (3R)-3-Metil-2-[(4-metilfenil)sulfonyl]-1,2,3,4-tetrahidroizochinolină

La o suspensie de 8,15 g (214,8 mmol) de LiAlH₄ în 800 ml de metil terț-butil eter (MTBE) se adaugă 101,2 g de compus de ditosil obținut în Etapa A (214,8 mmol), dizolvat în 200 ml de MTBE. Ulterior amestecul este încălzit la 50°C timp de 2 ore. Se lasă să se răcească și se plasează la 0°C, și apoi se adaugă, prin picurare, 12 ml de soluție de NaOH 5N. Amestecul se agită la temperatura ambiantă timp de 45 de minute. Solidul astfel obținut este apoi filtrat și spălat cu MTBE și apoi cu diclormetan. După aceasta filtratul se concentrează până la uscare. Produsul din titlu este apoi obținut sub formă de solid.

RMN ¹H: δ (400 MHz; dmsd-d₆; 300K): 7,70 (d, 2H, H aromatici, orto N-tosil); 7,38 (d, 2H, H aromatici, meta N-tosil); 7,2-7,0 (m, 4H, H aromatici, tetrahidroizochinolină); 4,4 (m, 2H, H alifatici, tetrahidroizochinolină); 4,3 (m, 1H, H alifatic, tetrahidroizochinolină); 2,85-2,51 (2dd, 2H, H alifatici, tetrahidroizochinolină); 2,35 (s, 3H, N-SO₂-Ph-CH₃); 0,90 (d, 3H, tetrahidroizochinolină-CH₃)

IR : ν: -SO₂: 1332-1154 cm⁻¹

Etapa C: (3R)-3-Metil-1,2,3,4-tetrahidroizochinolină

La o soluție de 31,15 g (103,15 mmol) de compus monotosil, obținut în Etapa B, în 500 ml de metanol anhidru se adaugă, în porții, 3,92 g (161 mmol) de așchii de magneziu. Amestecul se agită în prezența ultrasunetelor timp de 96 de ore. Apoi amestecul de reacție se filtrează și solidul se spală de câteva ori cu metanol. După aceasta filtratul se concentrează până la uscare. După

purificare prin cromatografia pe coloană cu silicagel (diclormetan /EtOH /NH₄OH), produsul din titlu este obținut sub formă de ulei.

RMN ¹H: δ (400 MHz; dms₂O-d₆; 300K): 7,05 (m, 4H, H aromatici, tetrahidroizochinolină); 3,90 (m, 2H, H alifatici, tetrahidroizochinolină); 2,85 (m, 1H, H alifatic, tetrahidroizochinolină); 2,68-2,4 (2dd, 2H, H alifatici, tetrahidroizochinolină); 1,12 (d, 3H, tetrahidroizochinolină-CH₃); 2,9-2,3 (m, larg, 1H, HN (tetrahidroizochinolină))

IR: ν: -NH: 3248 cm⁻¹

Etapa D: Hidroclorură de (3R)-3-metil-1,2,3,4-tetrahidroizochinolină

La o soluție de 14,3 g (97,20 mmol) de compus, obținut în Etapa C, în 20 ml de etanol anhidru se adaugă, prin picurare, 100 ml de soluție de HCl 1M în eter. Se agită amestecul la temperatura ambiantă timp de o oră și apoi se filtrează. Cristalele astfel obținute se spală cu eter etilic. După uscare, produsul din titlu este obținut sub formă de cristale.

RMN ¹H: δ (400 MHz; dms₂O-d₆; 300K): 9,57 (m, larg, 2H, NH₂⁺(tetrahidroizochinolină); 7,22 (m, 4H, H aromatici, tetrahidroizochinolină); 4,27 (s, 2H, H alifatici, tetrahidroizochinolină); 3,52 (m, 1H, H alifatic, tetrahidroizochinolină); 3,03--2,85 (2dd, 2H, H alifatici, tetrahidroizochinolină); 1,39 (d, 3H, tetrahidroizochinolină-CH₃)

IR: ν: -NH₂⁺: 3000-2300 cm⁻¹; ν: -CH aromatic: 766 cm⁻¹

Procedee de obținere 2': Hidroclorură de (3S)-3-[2-(morfolin-4-il)etil]-1,2,3,4-tetrahidroizochinolină

Etapa A: (3S)-3-(2-morfolino-2-oxo-etil)-3,4-dihidro-1H-izochinolină-2-carboxilat de terț-butil

La o soluție de 3 g (10,30 mmol) de acid [(3S)-2 (terț-butoxicarbonil) -1,2,3,4-tetrahidroizochinolin-3-il]acetic în 100 ml de diclormetan se adaugă, prin picurare, 1,10 ml (11,32 mmol) de morfolină și, tot prin picurare, 4,3 ml (30,9 mmol) de trietilamină, 2,20 g (12,40 mmol) de 1,2-diclormetan și 1,70 g (1,68 mmol) de hidroxibenzotriazol. Se agită amestecul la temperatura ambiantă timp de 15 ore. Apoi amestecul de reacție se diluează cu diclormetan și se spală succesiv cu soluție de HCl 1M, soluție saturată de NaHCO₃ și apoi cu soluție saturată de NaCl până la neutralitate. Faza organică se usucă ulterior pe MgSO₄, se filtrează și se concentrează până la uscare. După purificare prin cromatografia pe coloană cu silicagel (diclormetan/MeOH), produsul din titlu este obținut sub formă de ulei.

RMN ¹H: δ (400 MHz; dms₂O-d₆; 300K): 7,20-7,10 (m, 4H, H aromatici, tetrahidroizochinolină); 4,70 (m, 1H, H alifatici, CH tetrahidroizochinolină); 4,75-4,20 (2m, 2H, H alifatici, CH₂ alfa - N tetrahidroizochinolină); 3,60 (m, 8H, H alifatici, morfolină); 3,00 și 2,70 (2dd, 2H, H alifatic, tetrahidroizochinolină); 2,50-2,20 (2d, 2H, H alifatici, CH₂CO); 1,40 (s, 9H, ^tBu)

IR: ν: C=O: 1687 ;1625 cm⁻¹

Etapa B: Hidroclorură de 1-(morfolin-4-il)-2-[(3S)-1,2,3,4-tetrahidroizochinolin-3-il]etanon

La o soluție de 2,88 g (7,18 mmol) de compus, obținut în Etapa A, în 16 ml de diclormetan se adaugă, prin picurare, 80 ml (80 mmol) de soluție de HCl 1M în eter. Se agită amestecul la temperatura ambiantă timp de 15 ore, și apoi suspensia se filtrează și precipitatul se spală cu eter. După uscare, produsul din titlu este obținut sub formă de solid.

RMN ¹H: δ (400 MHz; dms₂O-d₆; 300K): 9,80-9,50 (m, 2H, NH₂⁺); 7,30-7,10 (m, 4H, H aromatici, tetrahidroizochinolină); 4,30 (m, 2H, H alifatici, CH₂ alfa - N tetrahidroizochinolină); 3,80 (m, 1H, H alifatici, CH tetrahidroizochinolină); 3,70-3,40 (2m, 8H, H alifatici, morfolină); 3,15 și 2,8 (m, 4H, H alifatic, CH₂ tetrahidroizochinolină și CH₂CO)

IR: ν: -NH₂⁺: 2800-1900 cm⁻¹; ν: C=O: 1620 cm⁻¹

Etapa C: Hidroclorură de (3S)-3-[2-(morfolin-4-il)etil]-1,2,3,4-tetrahidroizochinolină

Se prepară o soluție de 2,2 g (7,44 mmol) de compus obținut în Etapa B în 22 ml de MTBE și 5 ml de diclormetan. După răcire într-o baie de gheață la 0°C, la aceasta se adaugă, prin picurare, 15 ml (15 mmol) de soluție de LiAlH₄ 1M în tetrahidrofuran. Apoi amestecul se agită la temperatura ambiantă timp de 6 ore. Se plasează la 0°C, și apoi se adaugă, prin picurare, 1 ml de soluție de NaOH 5N. Amestecul se agită la temperatura ambiantă timp de 45 de minute. Ulterior solidul se filtrează și se spală cu MTBE și apoi cu diclormetan și filtratul se concentrează până la uscare. Uleiul astfel obținut se diluează cu diclormetan și se adaugă, prin picurare, 6,3 ml de soluție de HCl 1M în eter. Se agită amestecul la temperatura ambiantă timp de o oră și apoi se filtrează. Cristalele astfel obținute se spală cu eter etilic. După uscare, produsul din titlu este obținut sub formă de solid.

RMN ^1H : δ (400 MHz; dms -d_6 ; 300K): 11,35 + 9,80 (2m, 2H, NH_2^+); 10,00 (m, H, NH^+); 7,20 (m, 4H, H aromatici, tetrahidroizochinolină); 4,30 (s, 2H, H alifatici, CH_2 alfa - N tetrahidroizochinolină); 4,00 + 3,85 (2m, 4H, H alifatici, CH_2 alfa - N morfolină); 3,70 (m, 1H, H alifatici, CH tetrahidroizochinolină); 3,55-3,30 (m, 4H, H alifatici, CH alfa - O morfolină și CH_2 -morfolină); 3,15 (dd, 1H, H alifatic, CH_2 tetrahidroizochinolină); 3,10 (m, 2H, H alifatic, CH alfa - O morfolină); 2,90 (dd, 1H, H alifatic, CH_2 tetrahidroizochinolină); 2,30 + 2,15 (2m, 2H, H alifatic, CH_2 -tetrahidroizochinolină)

IR: ν : NH^+ / $-\text{NH}_2^+$: între 3500 și 2250 cm^{-1} ; ν : $\text{C}=\text{C}$: slab 1593 cm^{-1} ; ν : C-H aromatic: 765 cm^{-1}

10 **Procedul de obținere 3': {2-[(3S)-1,2,3,4-tetrahidroizochinolin-3-il]etil}carbammat de tert-butil**

Etapa A: (3S)-3-(2-hidroxietyl)-3,4-dihidroizochinolină-2(1H)-carboxilat de benzil

Compusul din titlu este obținut pornind de la acidul (3S)-2-[(benziloxi)carbonil]-1,2,3,4-tetrahidroizochinolină-3-carboxilic conform unui protocol din literatură (Jinlong Jiang et al Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 14, 1795, 2004).

15 **Etapa B: (3S)-3-{2-[(metilsulfonil)oxi]etil}-3,4-dihidroizochinolină-2(1H)-carboxilat de benzil**

La o soluție de 10,6 g de compus din Etapa A (35,6 mmol) în 350 ml de CH_2Cl_2 anhidru plasat la 0°C se adaugă succesiv 10,1 ml de trietilamină (71,2 mmol) și apoi, prin picurare, 3,1 ml de clorură de metansulfonil (39 mmol). Amestecul de reacție se agită apoi la temperatura ambiantă timp de 2 ore. Ulterior se efectuează hidroliza prin adăugarea lentă a apei. Produsul se extrage de câteva ori cu CH_2Cl_2 . Fazele organice sunt ulterior combinate și spălate succesiv cu soluție de HCl 1N, soluție saturată de NaCl, soluție saturată de NaHCO_3 și soluție saturată de NaCl până la neutralitate. Ulterior ele se usucă pe MgSO_4 și se concentrează până la uscare. După purificare prin cromatografie pe silicagel (gradient eter de petrol/AcOEt), produsul estimat este obținut sub formă de spumă.

CL/SM: $m/z = (\text{M} + \text{H})^+ = 375$

Etapa C: (3S)-3-(cianometil)-3,4-dihidroizochinolină-2(1H)-carboxilat de benzil

La o soluție de 15,4 g de compus obținut în Etapa B (41,02 mmol) în 250 ml de DMSO anhidru se adaugă 22 g (449 mmol) de cianură de sodiu. Ulterior amestecul este încălzit la 60°C timp de 12 ore. Se lasă să se răcească și apoi amestecul de reacție se diluează prin adăugarea acetatului de etil. Ulterior se efectuează hidroliza cu soluție saturată de NaHCO_3 . După extragerea de două ori cu acetat de etil, fazele organice se combină, se spală cu H_2O , se usucă pe MgSO_4 și se concentrează până la uscare. După purificare prin cromatografie pe silicagel (gradient hexan/AcOEt 7/3), produsul estimat este obținut sub formă de ulei.

CL/SM: $m/z = [\text{M} + \text{H}]^+ = 307,1$

Etapa D: (3S)-3-(2-aminometil)-3,4-dihidroizochinolină-2(1H)-carboxilat de benzil

La o soluție de 15,4 g de compus obținut în Etapa C (50,3 mmol) în 300 ml de THF anhidru plasat la 0°C se adaugă, prin picurare, o soluție de BH_3 -THF 1N. Amestecul de reacție se lasă să revină treptat la temperatura ambiantă și apoi se agită timp de 14 ore. Ulterior amestecul de reacție se hidrolizează prin adăugarea lentă a soluției saturate de NH_4Cl . După extragerea de două ori cu acetat de etil, fazele organice se combină și se usucă pe MgSO_4 . După concentrarea până la uscare, produsul estimat este obținut sub formă de spumă, care se folosește direct fără purificare în următoarea etapă de protejare.

45 **Etapa E: (3S)-3-[(terț-butoxicarbonil)amino]etil}-3,4-dihidroizochinolină-2(1H)-carboxilat de benzil**

La o soluție de 15,6 g de compus obținut în Etapa D (50,3 mmol) în 670 ml de CH_2Cl_2 se adaugă succesiv, în porții, 13,2 g (60,36 mmol) de Boc_2O , 14 ml de trietilamină (100,6 mmol) și DMAP în cantitate catalitică. Se agită amestecul la temperatura ambiantă timp de 5 ore. Amestecul de reacție se hidrolizează apoi cu apă și se extrage de două ori cu CH_2Cl_2 . Fazele organice se combină, se spală cu apă și se usucă pe MgSO_4 . După concentrare până la uscare și purificare prin cromatografie pe silicagel (gradient heptan/AcOEt), produsul estimat este obținut sub formă de ulei.

CL/SM: $m/z = (\text{M} + \text{H})^+ = 411$

55 **Etapa F: {2-[(3S)-1,2,3,4-tetrahidroizochinolin-3-il]etil}carbammat de tert-butil**

La o soluție de 10,4 g de compus obținut în Etapa E (25,5 mmol) în 210 ml de MeOH anhidru se adaugă 2,71 g (2,55 mmol) de Pd/C 10%. Amestecul este degazat timp de 30 de minute și apoi se agită sub atmosferă de hidrogen timp de 16 ore. Ulterior amestecul de reacție se filtrează și se concentrează până la uscare. Produsul preconizat este obținut sub formă de solid, care se prelevă

intr-un amestec de pentan/Et₂O (90/10), se triturează și se filtrează. După uscare, produsul este obținut sub formă de solid.

RMN ¹H: δ (400 MHz; dmsO-d₆; 300K): 7,1-6,98 (m, 4H, H aromatici, tetrahidroizochinolină); 6,83 (m, 1H, CH₂NHBoc); 3,85 (s, 2H, H alifatici, tetrahidroizochinolină); 3,09 (q, 2H, CH₂NHBoc); 2,73 (m, 1H, H alifatici, tetrahidroizochinolină); 2,70 și 2,39 (2m, 2H, H alifatici, tetrahidroizochinolină); 1,63 (m, 2H, H alifatici); 1,38 (s, 9H, NHCOOtBu)

IR: ν: >NH: 3378, -3201 cm⁻¹ (amină, amidă); ν: >C=O: 1683 cm⁻¹ (amidă); ν: >NH: 1524 cm⁻¹ (amidă); ν: >C=O: 1168 cm⁻¹

CL/SM: m/z = [M+H]⁺ = 277

Procedeul de obținere 4': (3R)-3-[3-(Morfolin-4-il)propil]-1,2,3,4-tetrahidroizochinolină
Etapa A: {(3S)-2-[(4-metilfenil)sulfonil]-1,2,3,4-tetrahidroizochinolin-3-il}metil 4-metilbenzensulfonat

Procedura este la fel ca cea din Etapa A a Procedeului de obținere 1'.

Etapa B: 2-[(3R)-2-[(4-metilfenil)sulfonil]-1,2,3,4-tetrahidroizochinolin-3-il]metil-3-(morfolin-4-il)-3-oxopropanoat de terț-butil

La o suspensie de 1 g de NaH (60%) (25,08 mmol) în 30 ml de MTBE se adaugă, prin picurare, o soluție de 5 g de 3-morfolino-3-oxopropanoat de terț-butil (21,81 mmol) în 20 ml de MTBE anhidru. Această suspensie se agită la temperatura ambiantă timp de o oră și apoi se adaugă compusul obținut în Etapa A sub formă de pudră. Amestecul se agită la 60°C timp de 30 de ore. Se adaugă 100 ml de soluție saturată de clorură de amoniu. Soluția rezultată se extrage cu diclormetan. Faza organică se usucă ulterior pe MgSO₄, se filtrează și se concentrează până la uscare. După purificare prin cromatografia pe coloană cu silicagel (diclormetan/MeOH), produsul estimat este obținut sub formă de ulei.

RMN ¹H (500 MHz, dmsO-d₆) δ ppm: 7,63/7,59 (2d, 2 H), 7,3/7,26 (2d, 2 H), 7,13 (m, 2 H), 7,09/6,97 (2t, 2 H), 4,64/4,55/4,36/4,28 (2AB, 2 H), 4,25/4,11 (2m, 1 H), 3,81 (m, 1 H), 3,73/3,48 (m, 4 H), 3,57-3,32 (m, 4 H), 2,51 (m, 2 H), 2,32/2,31 (2s, 3 H), 1,88/1,79 (2m, 2 H), 1,39/1,38 (2s, 9 H).

IR (RTA - reflexia totală atenuată) cm⁻¹: ν: >C=O: 1731 (ester); ν: >C=O: 1644 (amidă); ν: -SO₂: 1334-1156; ν: >C-O-C<: 1155; Γ: >CH-Ar: 815-746-709

Etapa C: Acidul 2-[(3R)-2-[(4-Metilfenil)sulfonil]-1,2,3,4-tetrahidroizochinolin-3-il]metil-3-(morfolin-4-il)-3-oxopropanoic

La o soluție de 9,5 g (17,97 mmol) de compus obținut în Etapa B în 40 ml de dioxan se adaugă, prin picurare, 20 ml de o soluție de HCl 4M în dioxan. Amestecul se agită la temperatura ambiantă timp de 48 de ore și apoi soluția se concentrează până la uscare. După uscare, produsul estimat este obținut sub formă de ulei.

RMN ¹H (400 MHz, dmsO-d₆) δ ppm: 12,75 (m, 1 H), 7,6 (2*d, 2 H), 7,3 (2*d, 2 H), 7,1/6,95 (2*m, 4 H), 4,7/4,2 (d, 2 H), 4,25/4,12 (2*m, 1 H), 3,9-3,3 (m, 9 H), 2,55 (d, 2 H), 2,3 (2*s, 3 H), 1,8 (t, 2 H)

IR (RTA) cm⁻¹: ν: -OH: 3500 - 2000; ν: >C=O: 1727 (acid); ν: >C=O: 1634 (amidă); ν: -SO₂: 1330-1155

Etapa D: 3-[(3R)-2-[(4-Metilfenil)sulfonil]-1,2,3,4-tetrahidroizochinolin-3-il]-1-(morfolin-4-il)propan-1-onă

La o soluție de 7,80 g (16,51 mmol) de compus obținut în Etapa C în 100 ml de DMSO se adaugă 1,16 g (19,83 mmol) de clorură de sodiu solidă și apoi, prin picurare, 5 ml de apă. Amestecul se agită la 130°C timp de o oră și apoi soluția se concentrează până la ?. Apoi amestecul de reacție se diluează cu diclormetan și se spală succesiv cu soluție saturată de clorură de litiu și apoi cu soluție saturată de NaCl. Faza organică se usucă ulterior pe MgSO₄, se filtrează și se concentrează până la uscare. După purificare prin cromatografia pe coloană cu silicagel (ciclohexan/acetat de etil), produsul estimat este obținut sub formă de ulei.

RMN ¹H (400 MHz, dmsO-d₆) δ ppm: 7,65 (d, 2 H), 7,3 (d, 2 H); 7,15/7 (2m, 4 H), 4,6 (d, 1 H), 4,25 (d, 1 H), 4,2 (m, 1 H), 3,5 (m, 4 H), 3,4 (2 m, 4 H), 2,6 (2 dd, 2 H), 2,35 (s, 3 H), 2,3 (m, 2 H), 1,5 (cvad., 2 H)

IR (RTA) cm⁻¹: ν: >C=O: 1639; ν: -SO₂: 1331-1156; Γ: >CH-Ar: 815-675

Etapa E: (3R)-2-[(4-Metilfenil)sulfonil]-3-[3-(morfolin-4-il)propil]-1,2,3,4-tetrahidroizochinolină

La o soluție de 6,0 g (14,0 mmol) de compus, obținut în Etapa A, în 60 ml de MTBE și 14 ml de diclormetan se adaugă 1,06 g (28 mmol) de LAH în porții timp de 5 minute. Se agită amestecul la temperatura ambiantă timp de 15 ore. Se adaugă, prin picurare, 1,5 ml de apă și se agită timp de

15 minute. Ulterior se adaugă, prin picurare, 1,5 ml de soluție de hidroxid de sodiu 5M și se agită timp de 15 minute. Se diluează apoi amestecul de reacție cu MTBE și diclormetan. După aceasta suspensia se filtrează și precipitatul se spală cu MTBE și diclormetan. Faza organică se usucă apoi pe MgSO_4 , se filtrează și se concentrează până la uscare. După purificare prin cromatografia pe

5 coloană cu silicagel (diclormetan/ $\text{EtOH}/\text{NH}_4\text{OH}$), produsul estimat este obținut sub formă de ulei.
RMN ^1H (400 MHz, dmsO-d_6) δ ppm: 7,68 (d, 2 H), 7,632 (d, 2 H); 7,1 (vârf fără rezoluție, 4 H), 4,65/4,23 (AB, 2 H), 4,2 (m, 1 H), 3,55 (t, 4 H), 2,7/2,6 (ABx, 2 H), 2,35 (s, 3 H), 2,25 (t, 4 H), 2,2 (t, 2 H), 1,4/1,3 (2m, 4 H)

IR (RTA) cm^{-1} : ν : $-\text{SO}_2$: 1333-1158

10 **Etapă F: (3R)-3-[3-(Morfolin-4-il)propil]-1,2,3,4-tetrahidroizochinolină**

La o soluție de 1,50 g (3,62 mmol) de compus obținut în Etapa E în 20 ml de metanol anhidru se adaugă 2,0 g (82,3 mmol), în porții, de așchii de magneziu. Amestecul se agită în prezența ultrasunetelor timp de 96 de ore. Apoi amestecul de reacție se filtrează, solidul se spală de câteva ori cu metanol, iar filtratul se concentrează până la uscare. După purificare prin cromatografia pe

15 coloană cu silicagel (diclormetan/ $\text{EtOH}/\text{NH}_4\text{OH}$), produsul estimat este obținut sub formă de ulei.
RMN ^1H (400 MHz, dmsO-d_6) δ ppm: 7,3 (d, 2 H), 7,1 (t, 2 H); 7,1 (d + t, 3 H), 7 (d, 2 H), 3,9 (s, 2 H), 3,55 (t, 4 H), 2,75 (m, 1 H), 2,72/2,45 (dd, 2 H), 2,35 (t, 4 H), 2,25 (t, 2 H), 1,6 (m, 2 H), 1,45 (m, 2 H)

IR (RTA) cm^{-1} : ν : $>\text{NH}_2+/\text{NH}^+$: 3500-2300; ν : $>\text{C-O-C}<$: 1115

20 Spectroscopia de masă de înaltă rezoluție (ESI $^{+/-}$ /FIA/HR):

Formula empirică: $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}$

$[\text{M}+\text{H}]^+$, calculat: 261,1961

$[\text{M}+\text{H}]^+$, măsurat: 261,1959

25 **Procedeul de obținere 5': Hidroclorură de (3S)-3-[2-(3,3-difluoropiperidin-1-il)etil]-1,2,3,4-tetrahidroizochinolină**

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 2', substituind morfolina utilizată în Etapa A cu 3,3-difluoro-1-piperidină.

30 RMN ^1H : δ (400 MHz; dmsO-d_6 ; 300K): 11,3 (m, 1H, NH^+); 10,2-9,8 (m, 2H, NH_2^+); 7,25 (m, 4H, H aromatici, tetrahidroizochinolină); 4,3 (s larg, 2H, H alifatici, CH tetrahidroizochinolină); 4,0-3,3 (m, 7H, H alifatici); 3,15-2,95 (dd, 2H, H alifatici, CH tetrahidroizochinolină); 2,4-1,9 (m, 6H, H alifatici, H 3,3-difluoro-1-piperidină)

IR: ν : $\text{NH}^+/\text{NH}_2^+$: între 300 și 2500 cm^{-1} ; ν : C-F: 1204 cm^{-1}

35 **Procedeul de obținere 6': Hidroclorură de (3S)-3-[2-(3-metoxiazetidin-1-il)etil]-1,2,3,4-tetrahidroizochinolină**

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 2', substituind morfolina utilizată în Etapa A cu 3-metoxiazetidină.

40 RMN ^1H : δ (400 MHz; dmsO-d_6 ; 300K): 11,3 (m, 1H, NH^+); 10,00 (m, 2H, NH_2^+); 7,20 (m, 4H, H aromatici, tetrahidroizochinolină); 4,4 (m, 1H, H alifatic, 3-metoxi azetidină); 4,30 (s, 2H, H alifatici, tetrahidroizochinolină); 4,2 -3,45 (m, 4H, 3-metoxiazetidină); 4,2 -3,6 (m, 3H, H alifatici); 3,1 și 2,95 (dd, 2H, H alifatici); 3,25 (s, 3H, OCH_3)

Procedeul de obținere 7': Hidroclorură de (3S)-3-metil-1,2,3,4-tetrahidroizochinolină

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1', substituind [(3S)-1,2,3,4-tetrahidroizochinolin-3-il]metanol utilizat în Etapa A cu [(3R)-1,2,3,4-tetrahidroizochinolin-3-il]metanol.

45 **Procedeul de obținere 1'': N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)-1-metil-1H-pirazol-4-amină**

Etapă A: 4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]anilină

50 Compusul din titlu este obținut pornind de la 4-aminofenol în THF în prezența imidazolului și clorurii de terț-butil(dimetil)silil în conformitate cu protocolul descris în literatură (S. Knaggs et al, Organic & Biomolecular Chemistry, 3(21), 4002-4010; 2005).

RMN ^1H : δ (400 MHz; dmsO-d_6 ; 300K): 6,45-6,55 (dd, 4H, H aromatici); 4,60 (m, 2H, NH_2 -Ph); 0,90 (s, 9H, Si $(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 0,10 (s, 6H, Si $(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$)

IR: ν : $-\text{NH}_2^+$: 3300-3400 cm^{-1}

Etapă B: N-[4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxifenil]-1-metil-pirazol-4-amină

55 La o soluție de 30,8 g (0,137 mol) de compus din Etapa A în 525 ml de toluen anhidru se adaugă succesiv 29,8 g de terț-butilat de sodiu (0,310 mol), 4,55 g de $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (denumit, de asemenea, tris(dibenzilidenacetona)dipaladiu (0)) (4,96 mmol), 4,81 g de 2-di-terț-butilfosfino-2',4',6'-tri-izopropil-1,1'-bifenil (9,91 mmol) și 12,8 ml de 4-bromo-1-metil-1H-pirazol (0,124

mol). Amestecul este degazat sub argon timp de 30 minute și apoi se încălzește la reflux timp de 3 ore. Se lasă să se răcească. Amestecul de reacție se concentrează până la uscare și apoi se prelevă în diclormetan, se filtrează prin celită și apoi se concentrează din nou până la uscare. Reziduul este apoi purificat prin cromatografie pe silicagel (gradient $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$) pentru a se obține produsul

5 estimat sub formă de solid.

RMN ^1H : δ (400 MHz; dmsO-d_6 ; 300K): 7,55 (s, 1H, pirazol); 7,23 (s, 1H, pirazol); 7,18 (s larg, 1H, $\text{NH}_2\text{-Ph}$); 6,64 (m, 4H, H aromatici); 3,77 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-pirazol}$); 0,90 (s, 9H, Si $(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 0,12 (s, 6H, Si $(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$)

IR: ν -NH^+ : 3275 cm^{-1} ; ν Ar și C=N : 1577 și 1502 cm^{-1} ; ν -Si-C- : 1236 cm^{-1} ;

10 ν -Si-O- : 898 cm^{-1} ; ν -Si-C- : 828, 774 cm^{-1}

Procedeul de obținere 2'': N-(4-[[**terț-Butil(dimetil)silil**]oxi]fenil)-1-metil-1H-indol-5-amină

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 5-bromo-1-metil-1H-indol.

15 **Procedeul de obținere 3'':** N-(4-[[**terț-Butil(dimetil)silil**]oxi]fenil)-1-[2-(morfolin-4-il)etil]-1H-indol-5-amină

Etapa A: 5-Bromo-1-[2-(morfolin-4-il)etil]-1H-indol

La o suspensie de NaH (4,5 g; 112 mmol) în THF anhidru (300 ml) plasată la 0°C se adaugă, în porții, 5-bromo-1H-indol (10,4 g; 51 mmol). După agitare timp de 20 minute la 0°C, se adaugă, în porții, hidrociorură de 4-(2-cloroetil)morfolină (10,4 g, 56 mol) timp de o oră. După agitare timp de o noapte la temperatura ambiantă, amestecul de reacție se pune la 80°C timp de 5 ore. Ulterior acesta se toarnă peste un amestec de bicarbonat de sodiu apos și diclormetan. Se extrage faza apoasă cu diclormetan. Faza organică se usucă pe MgSO_4 și se concentrează până la uscare, iar reziduul este purificat prin cromatografie pe silicagel (gradient $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) pentru a se obține

25 produsul estimat sub formă de ulei.

RMN ^1H : δ (400 MHz; CDCl_3 ; 300K): 7,75 (d, 1H); 7,30 (dd, 1H); 7,20 (d, 1H); 7,15 (d, 1H); 6,40 (d, 1H); 4,20 (t, 2H); 3,70 (m, 4H); 2,75 (t, 2H); 2,45 (m, 4H)

Etapa B: 5-Bromo-1-[2-(morfolin-4-il)etil]-1H-indol

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu compusul obținut în Etapa A.

30 RMN ^1H : δ (400 MHz; dmsO-d_6 ; 300K): 7,35 (d, 1H); 7,15 (dd, 1H); 6,85 (d, 3H); 6,70 (d, 2H); 7,30 (d, 1H); 6,25 (t, 1H); 4,20 (t, 2H); 3,55 (m, 4H); 2,65 (t, 2H); 2,45 (m, 4H); 1,45 (s, 9H), 0,15 (s, 6H)

35 **Procedeul de obținere 4'':** N-(4-[[**terț-Butil(dimetil)silil**]oxi]fenil)-1-[2-(morfolin-4-il)etil]-2,3-dihidro-1H-indol-5-amină

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 2'', substituind 5-bromoindol utilizat în Etapa A cu 5-bromo-2,3-dihidro-1H-indol.

Procedeul de obținere 5'': N-(4-[[**terț-Butil(dimetil)silil**]oxi]fenil)-4-fluoroanilină

40 Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 1-bromo-4-fluorobenzenă.

Procedeul de obținere 6'': N-(4-[[**terț-Butil(dimetil)silil**]oxi]fenil)-3-fluoro-4-metilanilină

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 4-bromo-2-fluoro-1-metilbenzenă.

45 **Procedeul de obținere 7'':** N-(4-[[**terț-Butil(dimetil)silil**]oxi]fenil)-1-metil-1H-indazol-5-amină

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 5-bromo-1-metil-1H-indazol.

Procedeul de obținere 8'': 4-[[**terț-Butil(dimetil)silil**]oxi]-N-fenilanilină

50 La o soluție de 12 g de 4-anilino-fenol (64,7 mmol) în 200 ml de acetonitril se adaugă, la temperatura ambiantă, 6,7 g de imidazol (97,05 mmol) și 11,7 g de **terț-butil(cloro)dimetilsilan** (77,64 mmol). Amestecul se agită la 70°C timp de 4 ore. Ulterior amestecul de reacție se toarnă în apă și se extrage cu eter. Faza organică se usucă apoi pe sulfat de magneziu, după care se filtrează și se evaporă până la uscare. Produsul brut astfel obținut este apoi purificat prin cromatografie pe silicagel (gradient eter de petrol/diclormetan). Produsul din titlu este obținut sub formă de pudră.

55 RMN ^1H : δ (400 MHz; dmsO-d_6 ; 300K): 7,84 (s, 1H NH); 7,17 (t, 2H anilină); 6,98 (d, 2H fenoxi); 6,94 (d, 2H anilină); 6,76 (d, 2H fenoxi); 6,72 (t, 1H anilină); 0,95 (s, 9H **terț-butil**); 0,15 (s, 6H dimetil)

IR: ν : >NH : 3403 cm^{-1} ; >Ar : 1597 cm^{-1}

Procedeu de obținere 9'': 4-Benziloxi-N-fenil-anilină

La o soluție de 4-hidroxi-N-fenil-anilină (30 g; 162 mmol) în acetonitril (400 ml) se adaugă 58 g de Cs_2CO_3 (178 mmol) și se agită timp de 15 minute la temperatura ambiantă. Apoi se adaugă, prin picurare, bromură de benzil (22,5 ml; 178 mmol) și ulterior amestecul de reacție este încălzit la reflux timp de 4 ore. După filtrare și clătire cu acetonitril, filtratul este concentrat și supus cromatografiei pe silicagel (gradient eter de petrol/AcOEt). Produsul din titlu este apoi obținut sub formă de solid incolor.

Procedeu de obținere 10'': N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)-3-fluoro-4-[2-(morfolin-4-il)etoxi]anilină

Procedura este în conformitate cu Procedeu de obținere 3'', substituind 5-bromo-1H-indol utilizat în Etapa A cu 4-bromo-2-fluorofenol.

RMN ^1H : δ (400 MHz; dmsd-d6; 300K): 7,75 (d, 1H); 7 (dd, 1H); 6,9 (d, 2H); 6,75 (m, 3H); 6,7 (ddd, 1H); 4,05 (t, 2H); 3,6 (t, 4H); 2,65 (t, 2H); 2,45 (t, 4H); 0,95 (s, 9H); 0,2 (s, 6H)

Procedeu de obținere 11'': N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)piridin-4-amină

Procedura este în conformitate cu Procedeu de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 4-bromopiridină.

IR: ν -NH-: 3200 și 2500 cm^{-1} ; ν -Si-O-: 902 cm^{-1} ; ν -Si-C-: 820 cm^{-1}

Procedeu de obținere 12'': 3-[(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)amino]benzonitril

Procedura este în conformitate cu Procedeu de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 3-bromobenzonitril.

Procedeu de obținere 13'': N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)-3-fluoroanilină

Procedura este în conformitate cu Procedeu de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 1-bromo-3-fluorobenzenă.

Procedeu de obținere 14'': N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)-3,4-difluoroanilină

Procedura este în conformitate cu Procedeu de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 4-bromo-1,2-difluorobenzenă.

Procedeu de obținere 15'': 4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]-N-{4-[(3,3-difluoropiperidin-1-il)metil]fenil}anilină**Etapa A: 1-(4-Bromobenzil)-3,3-difluoropiperidină**

La o soluție de 4-bromobenzaldehidă (500 mg; 2,7 mmol) în 12 ml de diclormetan se adaugă, în ordinea menționată, hidroclorură de 3,3-difluoropiperidină (470 mg; 3 mmol), triacetoxiborohidru de sodiu (860 mg; 4 mmol) și acid acetic (0,17 ml; 3 mmol). După agitare timp de o oră la temperatura ambiantă, amestecul de reacție se toarnă peste un amestec de bicarbonat de sodiu apos și diclormetan. Se extrage faza apoasă cu diclormetan. Faza organică se usucă pe MgSO_4 , se concentrează până la uscare și reziduul este purificat prin cromatografie pe silicagel (gradient $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) pentru a se obține produsul estimat sub formă de ulei.

RMN ^1H : δ (400 MHz; dmsd-d6; 300K): 7,55 (dd, 2H); 7,25 (dd, 2H); 3,55 (s, 2H); 2,7 (t, 2H); 2,35 (t, 2H); 1,85 (m, 2H); 1,65 (m, 2H)

Etapa B: 4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]-N-{4-[(3,3-difluoropiperidin-1-il)metil]fenil}anilină

Procedura este în conformitate cu Procedeu de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 1-[(4-bromofenil)metil]-3,3-difluoro-piperidină.

Procedeu de obținere 16'': N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)chinolin-6-amină

Procedura este în conformitate cu Procedeu de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 6-bromo-chinolină.

IR: ν -NH-: 3300 cm^{-1}

Procedeu de obținere 17'': N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)-2-metilpiridin-4-amină

Procedura este în conformitate cu Procedeu de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 4-bromo-2-metil-piridină.

IR: ν -NH-: 3200 și 3100 cm^{-1}

Procedeu de obținere 18'': N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)-1-metil-1H-pirol[2,3-b]piridin-5-amină

Procedura este în conformitate cu Procedeu de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 5-bromo-1-metil-1H-pirol[2,3-b]piridină (obținută în conformitate cu un protocol din literatură: Heterocycles, 60(4), 865, 2003).

IR: ν :-NH-: 3278 cm^{-1} ; ν : fragmente -C=C- aromatic: 1605 cm^{-1}

Procedeu de obținere 19'': N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)piridin-3-amină

Procedura este în conformitate cu Procedeu de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 3-bromo-piridină.

Procedeul de obținere 20": 4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]-N-{4-[(3,3-difluoropiperidin-1-il)etil]fenil}anilină**Etapa A: 2-(4-Bromofenil)-1-(3,3-difluoropiperidin-1-il)etanon**

La o soluție de acid 4-bromofenilacetic (4 g; 18,6 mmol) și hidroclorură de 3,3-difluoropiperidină (2,5 g; 20,4 mmol) în diclormetan (190 ml) se adaugă EDC (3,8 g; 22,3 mmol), HOBt (3 g; 22,3 mmol) și trietilamină (1,3 ml; 593 mmol). Amestecul de reacție se agită timp de 17 ore la temperatura ambiantă și apoi se toarnă peste un amestec de bicarbonat de sodiu apos și acetat de etil. Se extrage faza apoasă cu acetat de etil. Faza organică se spală cu acid clorhidric 0,1N, cu apă și cu saramură, înainte de a fi uscată pe MgSO_4 și se concentrează până la uscare. Reziduul se purifică prin cromatografie pe silicagel (gradient eter de petrol/acetat de etil) pentru a se obține produsul estimat sub formă de solid.

RMN ^1H : δ (400 MHz; dmsO-d_6 ; 300K): 7,5 (d, 2H); 7,2 (d, 2H); 3,8 (t, 2H); 3,7 (s, 3H); 3,5 (t, 2H); 2 (m, 2H); 1,6 (m, 2H)

Etapa B: 1-[2-(4-Bromofenil)etil]-3,3-difluoropiperidină

La o soluție de compus din Etapa A (4,6 g; 14,5 mmol) în THF anhidru (145 ml) se adaugă o soluție 1M de dimetilsulfură de boran în THF (14,5 ml; 14,5 mmol). Amestecul de reacție se încălzește la 80°C timp de 3 ore și apoi solventul se evaporă sub presiune redusă. Reziduul se tratează cu metanol (50 ml) și apoi cu HCl 5N (5,8 ml). După agitare timp de o noapte la temperatura ambiantă și încălzirea la reflux timp de 3 ore, pH-ul amestecului de reacție este ajustat până la 8 cu soluție saturată de bicarbonat de sodiu; faza apoasă se extrage apoi cu diclormetan. Faza organică se usucă pe MgSO_4 și se concentrează până la uscare, iar reziduul este purificat prin cromatografie pe silicagel (gradient $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) pentru a se obține produsul estimat sub formă de ulei.

RMN ^1H : δ (400 MHz; dmsO-d_6 ; 300K): 7,45 (d, 2H); 7,20 (d, 2H); 2,71 (m, 2H); 2,69 (t, 2H); 2,58 (dd, 2H); 2,45 (dd, 2H); 1,86 (m, 2H); 1,63 (m, 2H)

Etapa C: 4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]-N-{4-[(3,3-difluoropiperidin-1-il)etil]fenil}anilină

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1", substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu compusul din Etapa B.

RMN ^1H : δ (400 MHz; dmsO-d_6 ; 300K): 7,7 (s, 1H); 7,45 (d, 2H); 7,39 (t, 2H); 7,31 (t, 1H); 7,0 (m, 4H); 6,9 (d, 2H); 6,81 (d, 2H); 5,05 (s, 2H); 2,7 (t, 2H); 2,6 (t, 2H); 2,5 (t, 2H); 2,45 (t, 2H); 1,89 (m, 2H); 1,68 (m, 2H)

Procedeul de obținere 21": 4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]-N-{4-[2-(3,3-difluoropirolidin-1-il)etil]fenil}anilină

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 19", substituind hidroclorura de 3,3-difluoropiperidină în Etapa A cu hidroclorura de 3,3-difluoropirolidină.

RMN ^1H : δ (400 MHz; dmsO-d_6 ; 300K): 7,7 (s, 1H); 7,45 (d, 2H); 7,35 (t, 2H); 7,34 (t, 1H); 7,05-6,85 (m, 8H); 5,05 (s, 2H); 2,9 (t, 2H); 2,75-2,25 (m, 8H)

Procedeul de obținere 22": N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)-2,6-dimetilpiridin-4-amină

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1", substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 4-bromo-2,6-dimetilpiridină.

IR: ν : -NH-: 3300 și 2700 cm^{-1} ; ν : -Si-O-: 900 cm^{-1} ; ν : -Si-C-: 823 cm^{-1}

Procedeul de obținere 23": N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)-1-[2-(morfolin-4-il)etil]-1H-pirazol-4-amină

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 2", substituind 5-bromoindol utilizat în Etapa A cu 4-bromo-1H-pirazol.

RMN ^1H : δ (400 MHz; dmsO-d_6 ; 300K): 7,61 (s, 1H); 7,25 (s, 1H); 7,18 (s, 1H); 6,65 (m, 4H); 4,15 (t, 2H); 3,55 (t, 4H); 2,7 (t, 2H); 2,4 (t, 4H); 0,95 (s, 9H); 0,15 (s, 6H)

Procedeul de obținere 24": N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)-3-fluoropiridin-4-amină

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1", substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 4-bromo-3-fluoro-piridină.

IR: ν : -NH-: 3200 și 3000 cm^{-1} ; ν : -Si-O-: 900 cm^{-1} ; ν : -Si-C-: 820 cm^{-1}

Procedeul de obținere 25": N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)imidazo[1,2-a]piridin-7-amină

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1", substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 7-bromoimidazo[1,2-a]piridină (preparată pornind de la 4-bromopiridin-2-amină în conformitate cu un protocol din literatură: WO 2008124323 A1).

IR: ν : -NH-: 3300-3000 cm^{-1} ; ν : -C=N-: 1652 cm^{-1} ; ν : -C=C-: 1610 cm^{-1}

ν -Si-C-: 1236 cm^{-1} ; ν -Si-O-: 898 cm^{-1} ; ν -Si-C-: 828, 774 cm^{-1}

Procedeul de obținere 26'': **N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)-2-metilimidazo[1,2-a]piridin-7-amină**

5 Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 7-bromo-2-metil-imidazol[1,2-a]piridină (preparată pornind de la 4-bromopiridin-2-amină în conformitate cu un protocol din literatură: A. J. Helliot et al J. Heterocyclic Chemistry 19, 1437, 1982).

IR: ν -NH-: 3300-3000 cm^{-1} ; ν -C=N-: 1652 cm^{-1} ; ν -C=C-: 1610 cm^{-1} ;

ν -Si-C-: 1236 cm^{-1} ; ν -Si-O-: 898 cm^{-1} ; ν -Si-C-: 828, 774 cm^{-1}

10 **Procedeul de obținere 27'':** **N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)-6-metilpiridin-3-amină**

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 3-bromo-6-metil-piridină.

IR: ν -NH-: 3251 cm^{-1} ; ν : fragmente -C=C- aromatice: 1605 cm^{-1}

15 **Procedeul de obținere 28'':** **N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)-5-fluoropiridin-3-amină**

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 3-bromo-5-fluoro-piridină.

IR: ν -NH-: 3400-3000 cm^{-1} ; ν -C-F-: 1245 cm^{-1}

20 **Procedeul de obținere 29'':** **N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)-2-metoxipiridin-4-amină**

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 4-bromo-2-metoxi-piridină.

IR: ν -NH-: 3200 și 3000 cm^{-1} ; ν fragmente -C=C- aromatice: 1618, 1601 cm^{-1}

25 **Procedeul de obținere 30'':** **N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)-2-(propan-2-il)piridin-4-amină**

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 4-bromo-2-(propan-2-il)piridină.

IR: ν -NH-: 3300 și 3100 cm^{-1}

30 **Procedeul de obținere 31'':** **N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-6-amină**

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 6-bromopirazolo[1,5-a]pirimidină.

IR: ν -NH-: 3272 cm^{-1} ; ν -C=N-: 1634 cm^{-1} ; ν -C=C-: 1616 cm^{-1}

35 **Procedeul de obținere 32'':** **N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)-3,3a-dihidro[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidin-6-amină**

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 6-bromo-3,3a-dihidro[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidină preparată în conformitate cu literatura (WO 2011015343) pornind de la 4H-1,2,4-triazol-3-amină și 2-bromopropanedial.

IR: ν -NH-: 3244 cm^{-1}

Procedeul de obținere 33'': **N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)piridin-4-amină 1-oxid**

45 Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 4-bromopiridină 1-oxid preparat în conformitate cu literatura (WO 2009117269) pornind de la 4-bromopiridină.

IR: ν -NH-: 3246 cm^{-1} ; ν : fragmente -C=C- aromatice: 1618 cm^{-1}

Spectrul de masă:

Formula empirică: $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2\text{Si}$

50 $[\text{M}]^+$. m/z măsurat: 316

$[\text{M-O}]^+$. m/z măsurat: 300

$[\text{M-C}_4\text{H}_9]^+$. m/z măsurat: 259

Procedeul de obținere 34'': Clorură de N-[4-[terț-Butil(dimetil)silil]oxifenil]-1-metil-piridin-1-ium-4-amină

55 Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu clorura de 4-bromo-1-metil-piridin-1-ium preparată în conformitate cu literatura de specialitate pornind de la 4-bromopiridină.

Procedeul de obținere 35'': N-[4-[terț-Butil(dimetil)silil]oxifenil]-1-metil-pirazolo[3,4-b]piridin-5-amină

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 5-bromo-1-metil-pirazolo[3,4-b]piridină preparată în conformitate cu literatura de specialitate (WO 2006052568).

RMN ¹H (400 MHz, dmsO-d₆) δ ppm: 8,33 (d, 1 H), 7,94 (bs, 1 H), 7,92 (s, 1 H), 7,71 (d, 1 H), 6,95 (d, 2 H), 6,76 (d, 2 H), 4,01 (s, 3 H), 0,95 (s, 9 H), 0,17 (s, 6 H)

IR (RTA) cm⁻¹: 3290 ν >OH; 1503 ν Ar; 1249 γ -Si-CH₃

Procedeul de obținere 36'': N-[4-[terț-Butil(dimetil)silil]oxifenil]-3-metil-pirazolo[1,5-a]pirimidin-6-amină

Procedura este în conformitate cu Procedeul de obținere 1'', substituind 4-bromo-1-metil-1H-pirazol utilizat în Etapa B cu 6-bromo-3-metil-pirazolo[1,5-a]pirimidină preparată în conformitate cu literatura de specialitate (WO 2011015343 și WO2011049917).

RMN ¹H (400 MHz, dmsO-d₆) δ ppm: 8,49 (d, 1 H), 8,4 (d, 1 H), 7,98 (m, 1 H), 7,87 (s, 1 H), 7 (d, 2 H), 6,81 (d, 2 H), 2,29 (s, 3 H), 0,98 (s, 9 H), 0,2 (s, 6 H)

IR (RTA) cm⁻¹: 3257 ν >NH

Aminele NHR₃R₄, unde R₃ și R₄, independent unul de celălalt, reprezintă o grupare aril sau heteroaril, sunt obținute în conformitate cu procedeele descrise în literatură (Surry D.S. et al., Chemical Science, 2011, 2, 27-50, Charles M.D. et al., Organic Letters, 2005, 7, 3965-3968).

Reacția de protejare a funcției hidroxi a 4-anilino-fenol descrisă în Procedeul de obținere 8'' poate fi aplicată diverselor amine secundare NHR₃R₄ (definite mai sus), având una sau mai multe funcții hidroxi, în cazul în care acestea sunt disponibile pe piață. Alternativ, aminele secundare având, cel puțin, un substituent hidroxi pot fi sintetizate direct sub o formă protejată, și anume pornind de la reactivii a căror funcție hidroxi a fost protejată în prealabil. Printre grupările protectoare, terț-butil(dimetil)sililoxi și benziloxi sunt, în special, preferate.

Printre aminele NHR₃R₄, având un substituent hidroxi, care sunt utilizate pentru sintetizarea compușilor invenției, pot fi menționate: 4-(4-toluidino)fenol, 4-(4-cloroanilino)fenol, 4-(3-fluoro-4-metilanolino)fenol, 4-[4-(trifluorometoxi)anilino]fenol, 4-[4-hidroxianilino]fenol, {4-[(1-metil-1H-indol-6-il)amino]fenil}metanol, 4-(2,3-dihidro-1H-indol-6-ilamino)fenol, 4-[(1-metil-2,3-dihidro-1H-indol-6-il)amino]fenol, 4-[(1-metil-1H-indol-6-il)amino]fenol, 4-[(1-metil-1H-indol-6-il)amino]ciclohexanol, 4-[(1-metil-1,2,3,4-tetrahidro-6-chinolinil)amino]fenol, 4-[(4-metil-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-7-il)amino]fenol, 4-[4-(dietilamino)anilino]fenol, 4-(2,3-dihidro-1H-inden-5-ilamino)fenol, 4-[(1-metil-1H-indazol-5-il)amino]fenol, 4-[(1'-metil-1',2'-dihidrospiro[ciclopropan-1,3'-indol]-5'-il)amino]fenol, 4-[(1,3,3-trimetil-2,3-dihidro-1H-indol-5-il)amino]fenol, 4-[4-metoxi-3-(trifluorometil)anilino]fenol, 4-[4-(metilsulfanil)-3-(trifluorometil)anilino]fenol, 2-fluoro-4-[(1-metil-1H-indol-5-il)amino]fenol, 4-[(1-etil-1H-indol-5-il)amino]fenol, 4-[(1-etil-2,3-dihidro-1H-indol-5-il)amino]fenol, 4-[(1-izopropil-2,3-dihidro-1H-indol-5-il)amino]fenol, 4-(butilamino)fenol, 3-[(1-metil-1H-indol-5-il)amino]-1-propanol, 4-[(1-metil-1H-indol-5-il)amino]-1-butanol, 4-[(3-fluoro-4-metilfenil)amino]fenol, 4-[(3-cloro-4-metilfenil)amino]fenol, 4-[(4-fluorofenil)amino]fenol, 4-[(1-metil-1H-pirol-2,3-b)piridin-5-il)amino]fenol, 4-[(4-fluorofenil)amino]fenol, 4-[(2-fluorofenil)amino]fenol, 4-[(3-fluorofenil)amino]fenol, 4-[(2,4-difluorofenil)amino]fenol, 4-[(3,4-difluorofenil)amino]fenol, 3-[(4-hidroxifenil)amino]benzonitril, 4-[(3-metoxifenil)amino]fenol, 4-[(3,5-difluorofenil)amino]fenol, 4-[(3-metilfenil)amino]fenol, 4-[(4-hidroxifenil)amino]benzonitril, 4-[(3-clorofenil)amino]fenol, 4-(pirimidin-2-ilamino)fenol, 4-[(ciclobutilmetil)amino]fenol, 2-[(4-hidroxifenil)amino]benzonitril, 4-[(1-metil-1H-pirazol-4-il)metil]amino}fenol, 4-[(ciclopropilmetil)amino]fenol, 4-[(1-metil-1H-pirazol-3-il)metil]amino}fenol, 4-(but-2-in-1-ilamino)fenol, 4-(pirazin-2-ilamino)fenol, 4-(piridin-2-ilamino)fenol, 4-(piridazin-3-ilamino)fenol, 4-(pirimidin-5-ilamino)fenol, 4-(piridin-3-ilamino)fenol, 4-[(3,5-difluoro-4-metoxifenil)amino]fenol, 4-(piridin-4-ilamino)fenol, 4-[(3-fluoro-4-metoxifenil)amino]fenol, 2-(fenilamino)pirimidin-5-ol, 5-[(4-hidroxifenil)amino]-2-metoxibenzonitril, 4-[(3-(trifluorometil)fenil)amino]fenol, 4-(metilamino)fenol, 4-(etilamino)fenol și 4-(propan-2-ilamino)fenol.

Funcția(ile) hidroxi ale aminelor secundare enumerate mai sus este (sunt) protejată(e) în prealabil de o grupare protectoare adecvată înainte de orice cuplare la un derivat de acid al compusului cu formula (VII) precum s-a definit în procedeul general precedent.

Exemplul 1: N-(4-Hidroxifenil)-3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-N-(1-metil-1H-indol-5-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

Etapă A: 3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxilat de metil

La o soluție de 2 g de compus din Procedul de obținere 1 în 20 ml de diclormetan se adaugă, la temperatura ambiantă, 5,5 ml de N,N,N-trietilamină (6,96 mmol), compusul din Procedul de obținere 1' (6,96 mmol) și apoi 0,94 g de hidroxibenzotriazol (HOBT) și 1,34 g de 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)-carbodiimidă (EDC) (6,96 mmol). Amestecul de reacție se agită apoi la temperatura ambiantă timp de o noapte, după care acesta se toarnă peste o soluție de clorură de amoniu și se extrage cu acetat de etil. Faza organică se usucă pe sulfat de magneziu, și apoi se filtrează și se evaporă până la uscare. Produsul brut astfel obținut se purifică ulterior prin cromatografie pe silicagel (gradient heptan/AcOEt) pentru a se obține produsul estimat.

RMN ¹H: δ (400 MHz; dms-d₆; 300K): 7,2-6,8 (m, 4H, H aromatici, H tetrahidroizochinolină); 7,10 (s, 1H, H aromatic, benzodioxol); 6,92 (s, 1H, H aromatic, benzodioxol); 6,25 (m, 1H, H tetrahidroindolizină); 6,10 (s, 2H, H alifatici, OCH₂O); 4,80 (m, 1H, H alifatic, H tetrahidroizochinolină); 4,20 (m, 1H, H alifatic, H tetrahidroizochinolină); 4,1-3,5 (m, 3H); 3,60 (s, 3H, COOCH₃); 2,90 (m, 2H, H alifatici, H tetrahidroindolizină); 2,45 (m, 2H, H alifatici, H tetrahidroindolizină); 1,70 (m, 4H, H alifatici, H tetrahidroizochinolină); 0,80 (m, 3H, H alifatici, CH₃-THIQ).

IR: v: >C=O 1694 cm⁻¹ (ester conjugat); v: >C=O 1624 cm⁻¹ (amidă);

v: >C-Ar 772-742 cm⁻¹

Etapă B: 3-(6-[[[(3R)-3-Metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxilat de litiu

La o soluție ce conține 8,26 mmol de compus din Etapa A în 24 ml de dioxan se adaugă o soluție de hidroxid de litiu (675 mg, 16,1 mmol). Amestecul se pune într-un cuptor cu microunde la 140 W, 100°C timp de 2 ore și 30 minute. Apoi amestecul de reacție se filtrează și se evaporă. Solidul astfel obținut se usucă la 40°C într-un cuptor în prezența P₂O₅.

Etapă C: N-(4-[[tert-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)-3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-N-(1-metil-1H-indol-5-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

La o soluție ce conține 4,73 mmol de compus din Etapa B în 47 ml de diclormetan se adaugă, prin picurare, 1,2 ml de clorură de oxalil la 0°C. Amestecul de reacție se agită la temperatura ambiantă timp de 11 ore, și apoi este co-evaporat de câteva ori cu diclormetan. Produsul astfel obținut se pune în suspensie în 37 ml de diclormetan și apoi se adaugă la o soluție ce conține 7,1 mmol de compus obținut în Procedul de obținere 2" în 10 ml de diclormetan în prezența a 0,6 ml de piridină (7,1 mmol). Amestecul se agită la temperatura ambiantă timp de o noapte. Amestecul de reacție se concentrează, se purifică prin cromatografie pe silicagel (gradient diclormetan/metanol) pentru a se obține produsul estimat.

Etapă D: N-(4-Hidroxifenil)-3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-N-(1-metil-1H-indol-5-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

La o soluție ce conține 2,3 mmol de compus obținut în etapa C în 4 ml de metanol se adaugă 0,646 g (11,5 mmol) de hidroxid de potasiu dizolvat în 8 ml de metanol. Amestecul se agită la temperatura ambiantă timp de 30 de minute. Apoi amestecul de reacție se diluează cu diclormetan și se spală succesiv cu soluție de HCl 1N, soluție saturată de NaHCO₃ și apoi cu soluție saturată de NaCl până la obținerea unui pH neutru. Faza organică se usucă ulterior pe sulfat de magneziu, se filtrează și se evaporă. Produsul brut astfel obținut se purifică pe silicagel (gradient diclormetan/metanol) și apoi este liofilizat pentru a se obține produsul estimat.

Spectroscopia de masă de înaltă rezoluție (ESI+):

Formula empirică: C₄₂H₃₈CN₄O₅

[M+H]⁺, calculat: 679,2920

[M+H]⁺, măsurat: 679,2908

Exemplul 2: Hidroclorură de N-(4-hidroxifenil)-3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-N-{1-[2-(morfolin-4-il)etil]-1H-indol-5-il]-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

Procedura este în conformitate cu procedeele descrise în Etapele A-D din Exemplul 1 folosind reactivii corespunzători. După etapa de purificare pe silicagel (a se vedea Etapa D), solidul se dizolvă ulterior în diclormetan și se adaugă 2 ml de HCl 1N în eter. Întregul amestec se agită timp

de o oră și apoi se evaporă până la uscare. Hidroclorura astfel obținută se dizolvă într-un amestec de apă/acetoneitril până la dizolvarea completă, și apoi este liofilizată.

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=69,32;68,93; %H=5,94;5,74; %N=8,6;8,51; %Cl=4,35;4,6

- 5 Cu excepția cazului în care se menționează altfel, compușii din următoarele Exemple sunt sintetizați în conformitate cu procedeul din Exemplul 1 folosind în etapa A: (i) acidul corespunzător obținut conform unuia din Procedeele de obținere 1 - 18 și (ii) compusul de tetrahidroizochinolină corespunzător obținut conform unuia din Procedeele de obținere 1' - 7' și, în Etapa C: (iii) amina adecvată NHR_3R_4 (o listă neexhaustivă este propusă în Procedeele de obținere 1" - 36").

10 **Exemplul 3: Hidroclorură de 6-(5-cloro-2-[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil)fenil)-N-(4-hidroxifenil)-N-(1-metil-1H-indol-5-il)-1,2,3,4-tetrahidropirol[1,2-a]pirazină-8-carboxamidă**

- 15 Procedura este în conformitate cu procedeul din Exemplul 1, substituind, pe de o parte, compusul din Procedul de obținere 1 utilizat în Etapa A cu compusul din Procedul de obținere 2, și, pe de altă parte, compusul din Procedul de obținere 1" utilizat în Etapa C cu N-(4-[(terț-butil(dimetil)silil]oxi)fenil)-1-metil-1H-indol-5-amină, înțelegându-se că produsul astfel obținut nu este supus unei etape de transformare în sare în prezența HCl în eter precum s-a descris în Etapa D din Exemplul 1. Compusul astfel obținut este deprotejat în prezența a 10 echivalenți de acid trifluoroacetic în diclormetan (10 ml/mmol) la temperatura ambiantă timp de o noapte. Apoi, produsul este izolat prin concentrarea amestecului de reacție până la uscare. În final, acesta este supus unei etape de transformare în sare în prezența HCl în eter.

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=67,99;65,52; %H=5,28;4,49; %N=9,91;9,24; %Cl=10,03;9,95; %Cl=5,02;5,45

- 25 Spectroscopia de masă de înaltă rezoluție (ESI+):

Formula empirică: $\text{C}_{40}\text{H}_{36}\text{ClN}_5\text{O}_3$

$[\text{M}+\text{H}]^+$, calculat: 670,2585

$[\text{M}+\text{H}]^+$, măsurat: 670,2587

30 **Exemplul 4: 3-[5-Cloro-2-(3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-ilcarbonil)fenil]-N-(4-hidroxifenil)-N-{1-[2-(morfolin-4-il)etil]-1H-indol-5-il}-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă**

Microanaliza elementară: % măsurată (teoretică)

%C=70,85(71,65);%H=5,39(5,88);%N=9,11(9,28);%Cl=4,48(4,7)

35 **Exemplul 5: 3-[5-Cloro-2-(3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-ilcarbonil)fenil]-N-(4-hidroxifenil)-N-{1-[2-(morfolin-4-il)etil]-2,3-dihidro-1H-indol-5-il}-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă**

Etapa A: N-(4-[(terț-Butil(dimetil)silil]oxi)fenil)-3-[5-cloro-2-(3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-ilcarbonil)fenil]-N-{1-[2-(morfolin-4-il)etil]-2,3-dihidro-1H-indol-5-il}-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

- 40 Procedura este în conformitate cu protocoalele descrise în Etapele A-C din Exemplul 1, folosind compusul din Procedul de obținere 3 și 1,2,3,4-tetrahidroizochinolină în Etapa A, și compusul din Procedul de obținere 4" în Etapa C.

Etapa B: 3-[5-Cloro-2-(3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-ilcarbonil)fenil]-N-(4-hidroxifenil)-N-{1-[2-(morfolin-4-il)etil]-2,3-dihidro-1H-indol-5-il}-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

- 45 La o soluție de 1,3 g (1,45 mmol) de compus din Etapa A în 13 ml de acid acetic se adaugă, la temperatura ambiantă, cianoborohidură de sodiu (900 mg; 15 mmol). După agitare timp de 2 ore, amestecul de reacție se concentrează până la uscare, și apoi se diluează cu metanol (8 ml) și se tratează cu o soluție 1M de hidroxid de potasiu în metanol (6,3 ml; 6,3 mmol). Peste o oră la temperatura ambiantă, amestecul de reacție este concentrat până la uscare și apoi supus cromatografiei pe silicagel (gradient diclormetan/metanol), după care este liofilizat pentru a se obține produsul estimat sub formă de pudră.

Microanaliza elementară: % măsurată (teoretică)

%C=70,74(71,46);%H=5,74(6,13);%N=9(9,26);%Cl=4,46(4,69)

55 **Exemplul 6: Hidroclorură de N-(4-hidroxifenil)-2-metil-6-(7-[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil)-2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-il)-N-(1-metil-1H-indol-5-il)-1,2,3,4-tetrahidropirol[1,2-a]pirazină-8-carboxamidă**

Procedura este similară cu cea descrisă în Exemplul 7, în Etapa A, substituind compusul din Procedul de obținere 2 cu compusul din Procedul de obținere 4.

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=69,39;69,13; %H=5,69;4,98; %N=9,41;9,37; %Cl=4,76;4,65

Exemplul 7: 6-(5-Cloro-2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-N-(4-hidroxifenil)-2-metil-N-(1-metil-1H-indol-5-il)-1,2,3,4-tetrahidropirolo[1,2-a]pirazină-8-carboxamidă

Etapă A: 8-[[4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil](1-metil-1H-indol-5-il)carbamoil]-6-(5-cloro-2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-3,4-dihidropirolo[1,2-a]pirazină-2(1H)-carboxilat de terț-butil

Procedura este în conformitate cu protocoalele descrise în Etapele A-C din Exemplul 1, folosind compuși din Procedeele de obținere 2 și 1' în Etapa A, și compusul din Procedul de obținere 2'' în Etapa C.

Etapă B: 6-(5-Cloro-2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-8-[[4-hidroxifenil](1-metil-1H-indol-5-il)carbamoil]-3,4-dihidropirolo[1,2-a]pirazină-2(1H)-carboxilat de terț-butil

La o soluție de compus din Etapa A (1,1 g; 1,25 mmol) în metanol (6 ml) se adaugă o soluție 1M de hidroxid de potasiu în metanol (6,2 ml; 6,2 mmol). Peste 2 ore la temperatura ambiantă, metanolul este evaporat sub vid și reziduul este prelevat într-un amestec compus din diclormetan și soluție saturată de bicarbonat de sodiu. Fazele organice combinate se usucă pe MgSO_4 și se concentrează până la uscare. Reziduul obținut se purifică prin cromatografie pe silicagel (gradient $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) pentru a se obține produsul estimat sub formă de solid.

IR : ν : NH: 3450 cm^{-1} ; ν : CO: $1745\text{--}1620\text{ cm}^{-1}$

Etapă C: 6-(5-Cloro-2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-8-[[4-[[2,2-dimetilpropanoil]oxi]fenil](1-metil-1H-indol-5-il)carbamoil]-3,4-dihidropirolo[1,2-a]pirazină-2(1H)-carboxilat de terț-butil

La o soluție de compus din Etapa B (0,7 g; 0,93 mmol) în diclormetan (7 ml) se adaugă, la temperatura ambiantă, trietilamină (0,2 ml; 1,39 mmol) și apoi clorură de pivaloil (0,11 ml; 0,93 mmol). După agitare timp de 2 ore la temperatura ambiantă, amestecul de reacție se spală cu apă și saramură, se usucă pe MgSO_4 și se concentrează până la uscare. Reziduul obținut se utilizează așa cum este în următoarea Etapă fără a fi analizat.

Etapă D: Propanoat de 2,2-dimetil 4-[[6-(5-cloro-2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-1,2,3,4-tetrahidropirolo[1,2-a]pirazin-8-il]carbonil](1-metil-1H-indol-5-il)amino]fenil

La o soluție de compus din Etapa precedentă (0,82 g; 0,93 mmol) în diclormetan (9 ml) se adaugă, prin picurare, la 0°C , acid trifluoroacetic (0,7 ml; 13,9 mmol). După agitare timp de 15 ore la temperatura ambiantă, la amestecul de reacție se adaugă lent soluție saturată de bicarbonat de sodiu și apoi se separă fazele. Se extrage faza apoasă cu diclormetan. Fazele organice combinate se usucă pe MgSO_4 și se concentrează până la uscare. Reziduul obținut se purifică prin cromatografie pe silicagel (gradient $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) pentru a se obține produsul estimat sub formă de solid.

CL/SM: $m/z = [M+H]^+ = 754,30$

Etapă E: Propanoat de 2,2-dimetil 4-[[6-(5-cloro-2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-2-metil-1,2,3,4-tetrahidropirolo[1,2-a]pirazin-8-il]carbonil](1-metil-1H-indol-5-il)amino]fenil

La o soluție de compus din Etapa precedentă (0,41 g; 0,54 mmol) în diclormetan (2 ml) se adaugă, la temperatura ambiantă, formaldehidă (48 μl ; 1,74 mmol) și apoi triacetoxiborohidură (161 mg; 0,76 mmol). După agitare timp de 2 ore la temperatura ambiantă, amestecul de reacție este diluat cu diclormetan și apoi spălat cu soluție saturată de bicarbonat de sodiu. Faza organică se usucă pe MgSO_4 și se concentrează până la uscare. Reziduul obținut se purifică prin cromatografie pe silicagel (gradient $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$). Produsul estimat este obținut sub formă de solid.

CL/SM: $m/z = [M+H]^+ = 768,32$

Etapă F: 6-(5-Cloro-2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-N-(4-hidroxifenil)-2-metil-N-(1-metil-1H-indol-5-il)-1,2,3,4-tetrahidropirolo[1,2-a]pirazină-8-carboxamidă

La o soluție de compus din Etapa precedentă (0,25 g; 0,32 mmol) în dioxan (1 ml) se adaugă o soluție de hidroxid de litiu (27 mg; 0,65 mmol) în apă (1 ml). După agitare timp de 5 ore la temperatura ambiantă, amestecul de reacție este concentrat și diluat cu soluție saturată de bicarbonat de sodiu. Se extrage faza apoasă cu CH_2Cl_2 . Faza organică se usucă pe MgSO_4 și se concentrează până la uscare. Reziduul obținut se purifică prin cromatografie pe silicagel (gradient $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$). Produsul estimat este ulterior obținut sub formă de solid.

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=71,97:71,51; %H=5,6:5,25; %N=10,24:10,12

Exemplul 8: Hidroclorură de 3-(5-cloro-2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-N-(4-hidroxifenil)-N-{1-[2-(morfolin-4-il)etil]-1H-indol-5-il}indolizină-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=69,69,16; %H=5,41:4,82; %N=8,75:8,69; %Cl=4,43:4,13

Exemplul 9: Hidroclorură de 6-(5-fluoro-2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-N-(4-fluorofenil)-N-(4-hidroxifenil)-1,2,3,4-tetrahidropirolo[1,2-a]pirazină-8-carboxamidă

Procedura este în conformitate cu procedeul din Exemplul 1, substituind, pe de o parte, compusul din Procedeul de obținere 1 utilizat în Etapa A cu compusul din Procedeul de obținere 6, și, pe de altă parte, compusul din Procedeul de obținere 1" utilizat în Etapa C cu compusul din Procedeul de obținere 5", înțelegându-se că produsul astfel obținut nu este supus unei etape de transformare în sare în prezența HCl în eter precum s-a descris în Etapa D din Exemplul 1. Compusul astfel obținut este deprotejat în prezența a 10 echivalenți de acid trifluoroacetic în diclormetan (10 ml/mmol) la temperatura ambiantă timp de o noapte. Apoi, produsul este izolat prin concentrarea amestecului de reacție până la uscare. În final, acesta este supus unei etape de transformare în sare în prezența HCl în eter.

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=67,83:67,41; %H=5,08:4,61; %N=8,55:8,39; %Cl=5,41:5,28

Exemplul 10. Hidroclorură de 6-(5-fluoro-2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-N-(3-fluoro-4-metilfenil)-N-(4-hidroxifenil)-1,2,3,4-tetrahidropirolo[1,2-a]pirazină-8-carboxamidă

Procedura este în conformitate cu procedeul din Exemplul 1, substituind, pe de o parte, compusul din Procedeul de obținere 1 utilizat în Etapa A cu compusul din Procedeul de obținere 6, și, pe de altă parte, compusul din Procedeul de obținere 1" utilizat în Etapa C cu compusul din Procedeul de obținere 6", înțelegându-se că produsul astfel obținut nu este supus unei etape de transformare în sare în prezența HCl în eter precum s-a descris în Etapa D din Exemplul 1. Compusul astfel obținut este deprotejat în prezența a 10 echivalenți de acid trifluoroacetic în diclormetan (10 ml/mmol) la temperatura ambiantă timp de o noapte. Apoi, produsul este izolat prin concentrarea amestecului de reacție până la uscare. În final, acesta este supus unei etape de transformare în sare în prezența HCl în eter.

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=68,21:68,29; %H=5,27:4,91; %N=8,37:8,34; %Cl=5,3:5,17

Exemplul 11: Hidroclorură de N-(4-hidroxifenil)-6-(6-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(1-metil-1H-indazol-5-il)-1,2,3,4-tetrahidropirolo[1,2-a]pirazină-8-carboxamidă

Procedura este în conformitate cu procedeul din Exemplul 1, substituind, pe de o parte, compusul din Procedeul de obținere 1 utilizat în Etapa A cu compusul din Procedeul de obținere 7, și, pe de altă parte, compusul din Procedeul de obținere 1" utilizat în Etapa C cu N-(4-[[terț-butil(dimetil)silil]oxi]fenil)-1-metil-1H-indazol-5-amină, înțelegându-se că produsul astfel obținut nu este supus unei etape de transformare în sare în prezența HCl în eter precum s-a descris în Etapa D din Exemplul 1. Compusul astfel obținut este deprotejat în prezența a 10 echivalenți de acid trifluoroacetic în diclormetan (10 ml/mmol) la temperatura ambiantă timp de o noapte. Apoi produsul este izolat prin concentrarea amestecului de reacție până la uscare. În final, acesta este supus unei etape de transformare în sare în prezența HCl în eter.

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%H=5,2:4,83; %N=11,72:11,64; %Cl=4,94:5,34; %C=66,99:66,19

Exemplul 12: Hidroclorură de 6-(5-cloro-2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-N-(4-hidroxifenil)-N-(1-metil-1H-indazol-5-il)-1,2,3,4-tetrahidropirolo[1,2-a]pirazină-8-carboxamidă

Procedura este în conformitate cu procedeul din Exemplul 1, substituind, pe de o parte, compusul din Procedeul de obținere 1 utilizat în Etapa A cu compusul din Procedeul de obținere 2, și, pe de altă parte, compusul din Procedeul de obținere 1" utilizat în Etapa C cu N-(4-[[terț-butil(dimetil)silil]oxi]fenil)-1-metil-1H-indazol-5-amină, înțelegându-se că produsul astfel obținut nu este supus unei etape de transformare în sare în prezența HCl în eter precum s-a descris în Etapa D din Exemplul 1. Compusul astfel obținut este deprotejat în prezența a 10 echivalenți de acid trifluoroacetic în diclormetan (10 ml/mmol) la temperatura ambiantă timp de o noapte. Apoi

produsul este izolat prin concentrarea amestecului de reacție până la uscare. În final, acesta este supus unei etape de transformare în sare în prezența HCl în eter.

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=66,19;65,83; %H=5,13;4,99; %N=11,88;11,85; %Cl=5,01;5,36

- 5 **Exemplul 13. Hidroclorură de N-(4-hidroxifenil)-3-(6-[[[(3S)-3-[2-(morfolin-4-il)etil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă**

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=69,42;69,47; %H=5,96;5,58; %N=7,36;7,36; %Cl=4,66;4,42

- 10 **Exemplul 14. Hidroclorură de N-(4-hidroxifenil)-N-(1-metil-1H-indazol-5-il)-3-(6-[[[(3S)-3-[2-(morfolin-4-il)etil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă**

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=67,76;67,81; %H=5,81;5,63; %N=10,31;10,13; %Cl=4,35;4,22

- 15 **Exemplul 15. Hidroclorură de 7-amino-N-(4-hidroxifenil)-3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă**

Etapa A: 3'-(6-[[[(3R)-3-Metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-5',6'-dihidro-8'H-spiro[1,3-dioxolan-2,7'-indolizină]-1'-carboxilat de metil

- 20 Procedura este în conformitate cu protocolul din Etapa A a Exemplului 1, substituind compusul din Procedul de obținere 1 cu compusul din Procedul de obținere 8.

Etapa B: 3-(6-[[[(3R)-3-Metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-7-oxo-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxilat de metil

- 25 Se agită 4,47 mmol de compus din Etapa A dizolvat în 75 ml de THF în prezența a 37 ml de HCl 1M la reflux timp de 15 ore. La amestecul de reacție se adaugă 100 ml de apă și 100 ml de acetat de etil. Ulterior se adaugă 4 g de NaHCO₃ (4,7 mmol) sub formă de pudră până la obținerea unui pH bazic. Se extrage compusul cu acetat de etil; faza organică se usucă pe MgSO₄, se filtrează și se concentrează până la uscare.

- 30 **Etapa C: 7-Hidroxi-3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxilat de metil**

- La o soluție de 4,47 mmol de compus obținut în Etapa B în 30 ml de metanol se adaugă, în porții, 558 mg (14,75 mmol) de borohidru de sodiu. Amestecul de reacție se agită la temperatura ambiantă timp de o oră. Apoi se adaugă 50 ml de HCl 1M și metanolul se evaporă. Faza apoasă se neutralizează ulterior cu NaHCO₃ și apoi se extrage cu diclormetan. Faza organică se spală succesiv cu H₂O, se usucă pe MgSO₄, se filtrează și se concentrează până la uscare. Uleiul astfel obținut este purificat prin cromatografia rapidă (gradient diclormetan/etanol-amoniac) pentru a se obține produsul estimat.

- 40 **Etapa D: 3-(6-[[[(3R)-3-Metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-7-(prop-2-en-1-iloxi)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxilat de metil**

- La o suspensie de 331 mg (8,26 mmol) de hidru de sodiu în 15 ml de THF anhidru răcit până la 0°C se adaugă 4,13 mmol de compus obținut în Etapa C. Suspensia rezultată se agită timp de 15 minute la 0°C, și apoi se adaugă lent o soluție de 790 μl (9,1 mmol) de bromură de alil în 10 ml de THF (timp de 15 minute). Amestecul de reacție se agită timp de o oră la 0°C, iar apoi timp de 15 ore la temperatura ambiantă. Soluția rezultată se hidrolizează cu soluție apoasă saturată de NH₄Cl. Se extrage compusul cu acetat de etil; faza organică se usucă pe MgSO₄, se filtrează și se concentrează până la uscare. Uleiul astfel obținut este purificat prin cromatografia rapidă (gradient ciclohexan/acetat de etil) pentru a se obține produsul estimat.

- 50 **Etapa E: N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)-3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-N-fenil-7-(prop-2-en-1-iloxi)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă**

Procedura este în conformitate cu procedeele descrise în Etapele B și C din Exemplul 1 folosind reactivii corespunzători.

- 55 **Etapa F: N-(4-[[terț-Butil(dimetil)silil]oxi]fenil)-7-hidroxi-3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă**

Ulterior se efectuează o reacție de deprotejare a grupării alil în prezența 1,3-dimetilpirimidină-2,4,6(1H,3H,5H)-trionei (denumită, de asemenea, dimetilbarbiturat) și a tetrakis(trifenilfosfină)paladiului într-un amestec de metanol și diclormetan.

Etapa G: 7-Azido-N-(4-{{terț-butil(dimetil)silil}oxi}fenil)-3-(6-{{(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il}carbonil})-1,3-benzodioxol-5-il)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

La o soluție de compus din Etapa F (550 g; 0,72 mmol) în clorură de metilen (6 ml) se adaugă, la temperatura ambiantă, trietilamină (300 μ l; 1,8 mmol) și clorură de mesil (0,14 ml; 1,8 mmol). După agitare timp de 20 minute, amestecul de reacție este concentrat până la uscare și apoi este diluat cu 10 ml de DMSO. Se adaugă 470 mg de NaN_3 sub formă de pudră (7,2 mmol). Amestecul de reacție se lasă timp de 20 ore la temperatura ambiantă și apoi timp de 20 ore la 50°C. După aceasta se toarnă într-un amestec de diclormetan și apă. Faza organică se spală de 3 ori cu apă și apoi cu saramură, se usucă pe MgSO_4 , după care se concentrează până la uscare pentru a se obține produsul estimat, care se utilizează așa cum este în următoarea Etapă.

Etapa H: Hidroclorură de 7-Amino-N-(4-hidroxifenil)-3-(6-{{(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il}carbonil})-1,3-benzodioxol-5-il)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

La o soluție de 550 mg de compus din Etapa G (0,7 mmol) în etanol (10 ml) se adaugă, la temperatura ambiantă, 20 mg de Pd/C de 10%. După agitare timp de 15 ore sub 1 bar de hidrogen, amestecul de reacție este trecut printr-un filtru Whatman și se concentrează până la uscare. După purificarea prin cromatografie pe coloană de silicagel (gradient diclormetan/metanol), solidul se dizolvă ulterior în diclormetan, și se adaugă 2 ml de HCl 1N în eter. Întregul amestec se agită timp de o oră și apoi se evaporă până la uscare. Hidroclorura astfel obținută este dizolvată într-un amestec de apă/acetoneitril până la dizolvarea completă, și apoi este liofilizată pentru a se obține compusul estimat sub formă de pudră.

Microanaliza elementară: (%; teoretică:măsurată)

%C=69,17;68,68; %H=5,51;5,09; %N=8,27;8,41; %Cl=5,24;5,28

Exemplul 16. 3-(6-{{(3S)-3-(Hidroximetil)-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il}carbonil})-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(4-hidroxifenil)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

Etapa A: 3-(6-{{(3S)-3-(Hidroximetil)-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il}carbonil})-1,3-benzodioxol-5-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxilat de metil

Procedura este în conformitate cu procedeul din Etapa A a Exemplului 1 folosind (3S)-1,2,3,4-tetrahidroizochinolin-3-ilmetanol.

Etapa B: 3-(6-{{(3S)-3-[(prop-2-en-1-iloxi)metil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il}carbonil})-1,3-benzodioxol-5-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-carboxilat de metil

La o suspensie de NaH (703 mg; 17,6 mmol) în THF (20 ml) se adaugă o soluție de 7,8 g de compus din Etapa A (16 mmol) dizolvat într-un amestec de THF (50 ml) și DMF (30 ml). După agitare timp de o oră se adaugă bromură de alil (1,7 ml; 19 mmol). Amestecul de reacție se agită timp de 48 ore la temperatura ambiantă și apoi se toarnă peste un amestec de acetat de etil și apă. Faza organică se spală de 3 ori cu apă și cu soluție saturată de LiOH, se usucă pe MgSO_4 și se concentrează până la uscare. După purificare prin cromatografie pe silicagel (gradient diclormetan/metanol), produsul estimat este obținut sub formă de solid.

RMN ^1H : δ : (500MHz; dmsd- d_6 ; 300K): 7,2-6,9 (m, 4H); 7,05 (m, 1H); 6,9 (m, 1H); 6,45-6,1 (m, 1H); 6,15 (m, 2H); 5,9-5,65 (m, 1H); 5,2-5,0 (m, 2H); 5,05-3,8 (m, 1H); 4,85-4,25 (m, 2H); 4,3-3,45 (m, 7H); 3,4-2,4 (m, 6H); 1,95-1,45 (m, 4H)

Etapa C: N-[4-(Benziloxi)fenil]-N-fenil-3-(6-{{(3S)-3-[(prop-2-n-1-iloxi)metil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il}carbonil})-1,3-benzodioxol-5-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

Procedura este în conformitate cu procedeele din Etapele B și C indicate în Exemplul 1 folosind 4-(benziloxi)-N-fenilamină (a se vedea Procedeul de obținere 9").

Etapa D: 3-(6-{{(3S)-3-(Hidroximetil)-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il}carbonil})-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(4-hidroxifenil)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

La o suspensie de 5,1 g (6,65 mmol) de compus din Etapa C într-un amestec de diclormetan (7 ml) și metanol (2 ml) se adaugă acid dimetilbarbituric (2,1 g; 13,3 mmol) și tetrakis(trifenilfosfină)paladiu(0) (300 mg; 0,3 mmol). După agitare timp de 15 ore la 45°C, amestecul de reacție se toarnă peste un amestec de acetat de etil și apă. Faza organică se spală de două ori cu apă, se usucă pe MgSO_4 , se concentrează până la uscare și se diluează cu metanol (5 ml). Apoi amestecul se agită timp de 24 de ore sub atmosferă de hidrogen în prezența Pd/C (100 mg). Amestecul de reacție este trecut apoi printr-un filtru Whatman, este concentrat până la uscare, apoi este supus cromatografiei pe silicagel (gradient diclormetan/metanol), și, în cele din urmă, este liofilizat pentru a se obține produsul estimat sub formă de pudră.

Microanaliza elementară: % măsurată (teoretică)

%C=72,38(73); %H=5,22(5,5); %N=6,59(6,55)

Exemplul 17. Hidroclorură de N-{3-fluoro-4-[2-(morfolin-4-il)etoxi]fenil}-N-(4-hidroxfenil)-3-(6-[[3(R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)indolizina-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=67,12:66,79; %H=5,26:4,98; %N=6,96:7,17; %Cl=4,4:4,77

Exemplul 18. Hidroclorură de 3-[6-(3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-ilcarbonil)-1,3-benzodioxol-5-il]-N-{3-fluor-4-[2-(morfolin-4-il)etoxi]fenil}-N-(4-hidroxfenil)indolizina-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: % măsurată (teoretică)

%C=66,99(66,79); %H=4,93(5,1); %N=7,11(7,08); %Cl=4,46(4,48)

Exemplul 19. Hidroclorură de N-(4-Hidroxfenil)-3-(5-metil-2-[[3(S)-3-[2-(morfolin-4-il)etil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizina-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=72,26:72,51; %H=6,48:6,13; %N=7,66:7,71; %Cl=4,85:4,95; %Cl=4,85:4,64

Exemplul 20. Hidroclorură de N-(4-hidroxfenil)-3-(2-[[3(S)-3-[2-(morfolin-4-il)etil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizina-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=72:71,11; %H=6,32:5,94; %N=7,81:7,65; %Cl=4,94:5,08

Exemplul 21. Hidroclorură de N-(4-Hidroxfenil)-3-(6-[[3(R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(piridin-4-il)indolizina-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=69,24:69,12; %H=4,74:4,23; %N=8,5:8,45; %Cl=5,38:5,2

Exemplul 22. Hidroclorură de N-(4-hidroxfenil)-6-(6-[[3(S)-3-[2-(morfolin-4-il)etil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-N-fenilpirolo[1,2-a]pirimidina-8-carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=68,11:66,66; %H=5,32:4,93; %N=9,24:8,84; %Cl=4,68:5,78

Spectroscopia de masă de înaltă rezoluție (ESI+):

Formula empirică: C₄₃H₃₉N₅O₆

[M+H]⁺, calculat: 655,2915

[M+H]⁺, măsurat: 655,2915

Exemplul 23. Hidroclorură de N-(3-cianofenil)-N-(4-hidroxfenil)-3-(6-[[3(S)-3-[2-(morfolin-4-il)etil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizina-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=68,74:68,59; %H=5,64:5,5; %N=8,91:8,98; %Cl=4,51:4,48

Exemplul 24. Hidroclorură de N-(3-fluorofenil)-N-(4-hidroxfenil)-3-(6-[[3(S)-3-[2-(morfolin-4-il)etil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizina-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=67,81:67,45; %H=5,69:5,61; %N=7,19:7,42; %Cl=4,55:4,84

Exemplul 25. Hidroclorură de N-(3,4-difluorofenil)-N-(4-hidroxfenil)-3-(6-[[3(S)-3-[2-(morfolin-4-il)etil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizina-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=66,28:66,56; %H=5,44:5,25; %N=7,03:7,21; %Cl=4,45:4,32

Exemplul 26. Hidroclorură de N-(3-fluorofenil)-3-(6-[[3(S)-3-[2-(morfolin-4-il)etil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizina-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=69,24:70,16; %H=5,81:5,79; %N=7,34:7,47; %Cl=4,64:4,58

Exemplul 27. Hidroclorură de 3-(5-cloro-2-[[3(S)-3-[2-(morfolin-4-il)etil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-N-(3-fluorofenil)-N-(4-hidroxfenil)-5,6,7,8-tetrahidroindolizina-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=67,1:67,68; %H=5,63:5,4; %N=7,28:7,34; %Cl=4,61:4,59

Exemplul 28. Hidroclorură de N-(4-hidroxifenil)-3-(5-metoxi-2-[[[(3S)-3-[2-(morfolin-4-il)etil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil]-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-

5 carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=70,72:70,05; %H=6,34:5,95; %N=7,5:7,33; %Cl=4,74:4,74

Exemplul 29. Hidroclorură de N-(4-hidroxifenil)-3-(4-metoxi-2-[[[(3S)-3-[2-(morfolin-4-il)etil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil]-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-

10 carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=70,72:68,96; %H=6,34:5,78; %N=7,5:7,24; %Cl=4,74:4,62

Spectroscopia de masă de înaltă rezoluție (ESI+):

Formula empirică: C₄₄ H₄₆ N₄ O₅

15 [M+H]⁺, calculat: 711,3546

[M+H]⁺, măsurat: 711,3540

Exemplul 30. Hidroclorură de N-{4-[(3,3-difluoropiperidin-1-il)metil]fenil}-N-(4-hidroxifenil)-3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]indolizină-1-carboxamidă

20 Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=68,31:69,12; %H=5,22:4,93; %N=7,08:6,96; %Cl=4,48:4,07

Exemplul 31. Hidroclorură de N-(4-hidroxifenil)-3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-N-(chinolin-6-il)indolizină-1-

25 carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=71,13:71,29; %H=4,69:4,39; %N=7,9:8,14; %Cl=5:4,5

Exemplul 32. Hidroclorură de N-(4-hidroxifenil)-3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-N-(2-metilpiridin-4-il)indolizină-1-

30 Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=69,59:69,81; %H=4,94:4,53; %N=8,32:8,59; %Cl=5,27:5,01

Exemplul 33. Hidroclorură de N-(4-hidroxifenil)-3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-N-(1-metil-1H-pirol[2,3-b]piridin-5-il)indolizină-1-carboxamidă

35 Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=69,14:70,09; %H=4,81:4,55; %N=9,83:10,09; %Cl=4,98:3,26

Exemplul 34. Hidroclorură de N-(4-hidroxifenil)-3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-N-(piridin-3-il)indolizină-1-

40 Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=69,24:70,21; %H=4,74:4,42; %N=8,5:8,51; %Cl=5,38:3,33

Exemplul 35. Hidroclorură de N-{4-[2-(3,3-difluoropiperidin-1-il)etil]fenil}-N-(4-hidroxifenil)-3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]indolizină-1-carboxamidă

45 Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=68,61:67,96; %H=5,38:5,14; %N=6,96:6,76; %Cl=4,4:4,36

Exemplul 36. Hidroclorură de N-{4-[2-(3,3-difluoropirolidin-1-il)etil]fenil}-N-(4-hidroxifenil)-3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]indolizină-1-carboxamidă

50 Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=68,31:68,51; %H=5,22:4,85; %N=7,08:6,83; %Cl=4,48:4,48

Exemplul 37. Hidroclorură de 3-(6-[[[(3S)-3-(2-aminoetil)-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-N-(4-hidroxifenil)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-

55 carboxamidă

Etapa A: 3-(6-[[[(3S)-3-[2-[(terț-butoxicarbonil)amino]etil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxilat de metil

La o soluție de 2 g de compus din Procedul de obținere 1 în 20 ml de diclormetan se adaugă, la temperatura ambiantă, 5,5 ml de N,N,N-trietilamină (6,96 mmol), compusul din Procedul de

obținere 3' (6,96 mmol) și apoi 0,94 g de hidroxibenzotriazol (HOBT) și 1,34 g de 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)-carbodiimidă (EDC) (6,96 mmol). Amestecul de reacție se agită ulterior la temperatura ambiantă timp de o noapte, și apoi acesta se toarnă peste o soluție de clorură de amoniu și se extrage cu acetat de etil. Faza organică se usucă pe sulfat de magneziu, și apoi se filtrează și se evaporă până la uscare. Produsul brut astfel obținut se purifică ulterior prin

5 cromatografie pe silicagel (gradient heptan/ AcOEt) pentru a se obține produsul estimat.
 RMN ¹H: δ (400 MHz; dms_o-d₆; 300K): 7,2-6,8 (m, 4H, H aromatici, H tetrahydroizochinolină); 7,15-6,90 (m, 4H, H aromatic, tetrahydroizochinolină); 7,00-6,80 (m, 2H, H aromatic, benzodioxol); 6,68+6,55+6,25 (m, 1H, NH); 6,50-6,05 (m, 1H, H aromatic, tetrahydroindolizină); 6,12 (m, 2H, H alifatici, OCH₂O); 4,95+4,20+4,10 (m, 2H, H alifatic, CH₂N tetrahydroizochinolină); 4,85+4,78+3,80 (m, 1H, H alifatic, CH tetrahydroizochinolină); 4,00-3,40 (m, 2H, H alifatici, CH₂N tetrahydroindolizină); 3,70-3,50 (m, 3H, COOCH₃); 2,95-2,45 (m, 2H, H alifatici, CH₂NHBoc); 2,98-2,30 (m, 2H, H alifatici, CH₂C tetrahydroindolizină); 3,00+2,60+2,42 (m, 2H, H alifatici, CH₂CH tetrahydroindolizină); 1,95-1,40 (m, 4H, H alifatici, CH₂CH₂ tetrahydroindolizină); 1,35-1,25 (m, 9H, H alifatici, tBu); 1,50-1,15 (m, 2H, H alifatici, CH₂CH₂NHBoc)

Etapa B: 3-(6-[(3S)-3-{2-[(terț-butoxicarbonil)amino]etil}-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil)-1,3-benzodioxol-5-il)-5,6,7,8-tetrahydroindolizină-1-carboxilat de litiu

La o soluție ce conține 8,26 mmol de compus din Etapa A în 24 ml de dioxan se adaugă o soluție de hidroxid de litiu (675 mg, 16,1 mmol). Amestecul se pune într-un cuptor cu microunde la 140 W, 100°C timp de 2 ore și 30 minute. Apoi amestecul de reacție se filtrează și se evaporă. Solidul astfel obținut se usucă la 40°C într-un cuptor în prezența P₂O₅.

Etapa C: (2-[(3S)-2-[(6-{1-[(4-{terț-butil(dimetil)silil]oxi}fenil)(fenil)carbamoil]-5,6,7,8-tetrahydroindolizin-3-il)-1,3-benzodioxol-5-il]carbonil)-1,2,3,4-tetrahydroizochinolin-3-il]etil)carbamate de terț-butil

La o soluție ce conține 4,73 mmol de compus din Etapa B în 47 ml de diclormetan se adaugă, prin picurare, 1,2 ml de clorură de oxalil la 0°C. Amestecul de reacție se agită la temperatura ambiantă timp de 11 ore, și apoi este co-evaporat de câteva ori cu diclormetan. Produsul astfel obținut se pune în suspensie în 37 ml de diclormetan și apoi se adaugă la o soluție ce conține 7,1 mmol de compus obținut în Procedul de obținere 8" în 10 ml de diclormetan în prezența a 0,6 ml de piridină (7,1 mmol). Amestecul se agită la temperatura ambiantă timp de o noapte.

Amestecul de reacție se concentrează și se purifică prin cromatografie pe silicagel (gradient diclormetan/metanol) pentru a se obține produsul estimat.

35 RMN ¹H: δ (400 MHz; dms_o-d₆; 300K): 7,0 (m, 11H, H aromatici, Ph + 4H, tetrahydroizochinolină + 2H, PhO); 6,80-6,65 (m, 2H, H aromatici, PhO); 6,95-6,85 (m, 2H, H aromatic, benzodioxol); 6,70+6,40 (3tl, 1H, NH); 6,10 (m, 2H, H alifatici, OCH₂O); 5,25-4,85 (m, 1H, H aromatic, tetrahydroindolizină); 5,00+4,00 (m, 2H, H alifatici, CH₂N tetrahydroizochinolină); 4,90-3,60 (m, 1H, H alifatic, CH tetrahydroizochinolină); 4,10-3,40 (m, 2H, H alifatici, CH₂N tetrahydroindolizină); 3,00-2,50 (m, 2H, H alifatici, CH₂C tetrahydroindolizină); 3,00+2,40 (m, 2H, H alifatici, CH₂CH tetrahydroindolizină); 3,00-2,50 (m, 2H, H alifatici, CH₂NHBoc); 1,80-1,50 (m, 4H, H alifatici, CH₂CH₂ tetrahydroindolizină); 1,50-1,30 (m, 2H, H alifatici, CH₂CH₂NHBoc); 1,35 (2s, 9H, H alifatici, tBu); 0,90 (s, 9H, H alifatici, tBu-Si); 0,10 (m, 6H, H alifatici, Me-Si)

Etapa D: Hidroclorură de 3-(6-[(3S)-3-(2-Aminoetil)-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil)-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(4-hidroxifenil)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahydroindolizină-1-carboxamidă

La o soluție de 800 mg (0,92 mmol) de compus din Etapa C în 10 ml de metanol se adaugă 258 mg (4,60 mmol) de KOH. După agitare timp de 3 ore la temperatura ambiantă, amestecul de reacție se tratează cu soluție de HCl 4M în 6 ml de dioxan. După agitare timp de 2 ore la temperatura ambiantă, amestecul de reacție se concentrează și se tratează cu soluție apoasă saturată de NaHCO₃ și se extrage cu clorură de metilen. Faza organică se usucă pe sulfat de magneziu, și apoi se filtrează și se evaporă până la uscare. Produsul brut astfel obținut este apoi purificat prin cromatografie pe silicagel (gradient diclormetan/metanol). Ulterior compusul se dizolvă în 5 ml de diclormetan, și se adaugă 2,5 ml de HCl 1M în eter. Compusul se filtrează și se usucă sub vid.

55 Produsul estimat este obținut sub formă de spumă.

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=69,51;69,53; %H=5,69;5,27; %N=8,11;8,04; %Cl=5,13;5,2

Spectroscopia de masă de înaltă rezoluție (ESI+):

Formula empirică: $C_{40}H_{38}N_4O_5$

$[M+H]^+$, calculat: 655,2915

$[M+H]^+$, măsurat: 655,2915

- 5 RMN 1H : δ (400 MHz; dmso-d₆; 300K): 9,55+9,45 (2s, 1H, OH); 7,80+7,75 (2s, 3H, NH_3^+); 7,46-6,55 (m, 11H, H aromatici, Ph + 4H, tetrahidroizochinolină + 2H, PhO); 6,90-6,55 (m, 2H, H aromatici, PhO); 7,00-6,70 (câțiva s, 2H, H aromatic, benzodioxol); 5,35-5,00 (câțiva s, 1H, H aromatic, tetrahidroindolizină); 6,10 (câțiva s, 2H, H alifatici, OCH_2O); 5,00-3,35 (câțiva m, 4H, H alifatic, CH_2N tetrahidroizochinolină + CH_2N tetrahidroindolizină); 4,85+4,75+3,60 (câțiva m, 1H, H alifatic, CH tetrahidroizochinolină); 2,85-2,45 (câțiva m, 2H, H alifatici, CH_2NH_2); 3,00-2,45 (câțiva m, 2H, H alifatici, CH_2C tetrahidroindolizină); 3,05+2,30 (câțiva m, 2H, H alifatici, CH_2CH tetrahidroizochinolină); 1,85-1,40 (câțiva m, 2H, H alifatici, CH_2 tetrahidroizochinolină); 1,95-1,35 (câțiva m, 2H, H alifatici, CH_2 tetrahidroizochinolină); 1,75-1,40 (câțiva m, 2H, H alifatici, $CH_2CH_2NH_2$)

- 15 IR: ν : -OH: 3375 cm^{-1} (fenol); ν : $-NH_3^+$: 3500-2300 cm^{-1} (sare a aminei primare); ν : $>C=O$ 1612 cm^{-1} + prag (amidă)

Exemplul 38. Hidroclorură de N-(4-hidroxifenil)-3-(6-([(3R)-3-[3-(morfolin-4-il)propil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil)-1,3-benzodioxol-5-il)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

- 20 Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)
%C=69,71:69,62; %H=6,11:5,67; %N=7,23:7,12; %Cl=4,57:4,81

Exemplul 39. Hidroclorură de N-(2,6-dimetilpiridin-4-il)-N-(4-hidroxifenil)-3-(6-([(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil)-1,3-benzodioxol-5-il)indolizină-1-carboxamidă

- 25 Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)
%C=69,91:69,68; %H=5,13:4,78; %N=8,15:8,03; %Cl=5,16:5,16

Exemplul 40. N-(4-Hidroxifenil)-3-(6-([(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil)-1,3-benzodioxol-5-il)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

- 30 Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)
%C=74,86:74,88; %H=5,64:5,31; %N=6,72:6,78

Exemplul 41. Hidroclorură de 3-(6-([(3S)-3-[2-(3,3-difluoropiperidin-1-il)etil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil)-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(4-hidroxifenil)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

- 35 Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)
%C=67,96:68,34; %H=5,7:5,4; %N=7,04:6,97; %Cl=4,46:4,27

Exemplul 42. Hidroclorură de N-(4-hidroxifenil)-3-(6-([(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil)-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(piridin-4-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

- 40 Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)
%C=68,82:69,46; %H=5,32:4,95; %N=8,45:8,48; %Cl=5,35:4,6

Exemplul 43. 3-(6-([(3S)-3-{2-[(2,2-Difluoroetil)amino]etil}-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil)-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(4-hidroxifenil)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

- 45 Etapa A: 3-(6-([(3S)-3-{2-[(terț-butoxicarbonil)amino]etil}-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil)-1,3-benzodioxol-5-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxilat de etil
Procedeul este similar celui descris în Etapa A din Exemplul 37.

Etapa B: 3-(6-([(3S)-3-{2-[(terț-butoxicarbonil)(2,2-difluoroetil)amino]etil}-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil)-1,3-benzodioxol-5-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxilat de etil

- 50 La o suspensie de 337 mg de NaH (60 %) (8,41 mmol) în 13 ml de dimetilformamidă se adaugă, prin picurare, o soluție de 1,01 g (1,68 mmol) de compus din Etapa A în 13 ml de dimetilformamidă. Suspensia rezultată se agită la temperatura ambiantă timp de 15 minute și apoi se adaugă 1,08 g (5,04 mmol) de 2,2-difluoroetil trifluorometansulfonat în 13 ml de dimetilformamidă. Amestecul se agită la temperatura ambiantă timp de 2 ore. Se adaugă o soluție de 20 ml de clorură saturată de amoniu. Se extrage soluția cu acetat de etil. Faza organică se usucă apoi pe $MgSO_4$, se filtrează și se concentrează până la uscare. După purificare prin cromatografia pe coloană de silicagel (ciclohexan/acetat de etil), produsul estimat este obținut sub formă de ulei.

Spectroscopia de masă de înaltă rezoluție (ESI+):

Formula empirică: $C_{37}H_{43}CN_3O_7$

$[M+H]^+$, calculat: 680,3142

$[M+H]^+$, măsurat: 680,3145

- 5 RMN 1H : δ (400 MHz; dms o -d $_6$; 300K): 7,25-6,90 (m, 4H, H aromatici, tetrahidroizochinolină); 7,10-6,75 (m, 2H, H aromatic, benzodioxol); 4,40-6,05 (m, 1H, H aromatic, tetrahidroindolizină); 6,10 (m, 2H, H alifatici, OCH_2O); 6,25-5,90 (m, 1H, H alifatici, CHF_2); 4,95-4,10 (m, 2H, H alifatici, CH_2N tetrahidroizochinolină); 4,80+3,80 (2m, 1H, H alifatic, CH tetrahidroizochinolină); 4,10-4,00 (m, 2H, CH_2 Et); 4,05-3,40 (m, 2H, H alifatic, CH_2N tetrahidroindolizină); 3,60-2,60 (m, 4H, H alifatic, $CH_2CHF_2 + CH_2NBoc$); 3,00-2,35 (m, 2H, H alifatici, CH_2C tetrahidroindolizină); 3,00+2,45 (m, 2H, H alifatic, CH_2CH tetrahidroizochinolină); 1,95+1,40 (m, 4H, H alifatici, CH_2CH_2 tetrahidroindolizină); 1,40 (m, 9H, H alifatici, tBu); 1,65-1,20 (m, 2H, H alifatici, CH_2CH_2NBoc); 1,18+1,10 (2t, 3H, H alifatici CH_3 Et)

- 15 **Etapa C: (2-((3S)-2-[(6-{1-[(4-{terț-butil(dimetil)silil}oxi}fenil)(fenil)carbamoil]-5,6,7,8-tetrahidroindolizin-3-il}-1,3-benzodioxol-5-il)carbonil]-1,2,3,4-tetrahidroizochinolin-3-il)etil)(2,2-difluoroetil)carbamate de terț-butil**

Procedeu este similar celui descris în Etapele B și C din Exemplul 37.

- 20 RMN 1H : δ (400 MHz; dms o -d $_6$; 300K): 7,30-6,60 (m, 9H, H aromatici, 4H tetrahidroizochinolină + Ph); 6,90-6,70 (m, 2H, H aromatic, benzodioxol); 6,80-6,60 (m, 4H, PhO); 6,10 (m, 2H, H alifatici, OCH_2O); 6,20-5,90 (m, 1H, H alifatici, CHF_2); 5,50-4,80 (4s, 1H, H aromatic, tetrahidroindolizină); 5,20-4,00 (m, 2H, H alifatic, CH_2N tetrahidroizochinolină); 4,80+4,70+3,50 (3m, 1H, H alifatic, CH tetrahidroizochinolină); 4,20-3,40 (m, 2H, H alifatic, CH_2N tetrahidroindolizină); 3,60-3,10 (m, 4H, H alifatic, $CH_2CHF_2 + CH_2NBoc$); 3,00+2,60 (m, 2H, H alifatici, CH_2CH tetrahidroizochinolină); 3,00-2,50 (m, 2H, H alifatici, CH_2C tetrahidroindolizină); 1,80+1,50 (m, 4H, H alifatici, CH_2CH_2 tetrahidroindolizină); 1,60-1,30 (m, 2H, H alifatici, CH_2CH_2NBoc); 1,40-1,30 (m, 9H, H alifatici, tBu); 0,90 (4s, 9H, H alifatici, $tBu-Si$); 0,10 (4s, 6H, H alifatici, Me-Si)

- 25 **Etapa D: 3-(6-([(3S)-3-{2-[(2,2-difluoroetil)amino]etil}-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil)-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(4-hidroxifenil)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă**

- 30 La o soluție de 933 mg (1,00 mmol) de compus din Etapa C în 10 ml de metanol se adaugă 280 mg (5,00 mmol) de KOH. După agitare timp de 3 ore la temperatura ambiantă, amestecul de reacție se tratează cu soluție de HCl 4M în 6 ml de dioxan. După agitare timp de 2 ore la temperatura ambiantă, amestecul de reacție se concentrează și se tratează cu soluție apoasă saturată de $NaHCO_3$ și apoi se extrage cu clorură de metilen. Faza organică se usucă pe sulfat de magneziu, și apoi se filtrează și se evaporă până la uscare. Produsul brut astfel obținut este purificat apoi prin cromatografie pe silicagel (gradient diclorometan/metanol) pentru a se obține produsul estimat sub formă de spumă.

- 40 Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=70,18;69,79; %H=5,61;5,67; %N=7,79;7,7

Spectroscopia de masă de înaltă rezoluție (ESI+):

Formula empirică: $C_{42}H_{40}F_2N_4O_5$

$[M+H]^+$, calculat: 655,2915

$[M+H]^+$, măsurat: 655,2915

- 45 **Exemplul 44. N-(4-Hidroxifenil)-3-(6-([(3S)-3-{2-(3-metoxiazetidina-1-il)etil}-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil)-1,3-benzodioxol-5-il)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă**

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=72,91;72,73; %H=6,12;5,67; %N=7,73;7,74

- 50 **Exemplul 45. Hidroclorură de N-(4-hidroxifenil)-3-(6-([(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil)-1,3-benzodioxol-5-il)-N-{1-[2-(morfolin-4-il)etil]-1H-pirazol-4-il}indolizină-1-carboxamidă**

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=66,27;66,05; %H=5,43;5,27; %N=11,04;11,07; %Cl=4,66;4,61

- 55 **Exemplul 46. Hidroclorură de N-(3-fluoropiridin-4-il)-N-(4-hidroxifenil)-3-(6-([(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil)-1,3-benzodioxol-5-il)indolizină-1-carboxamidă**

Spectroscopia de masă de înaltă rezoluție (ESI+):

Formula empirică: $C_{38}H_{29}FN_4O_5$

[M+H]⁺, calculat: 641,2195

[M+H]⁺, măsurat: 641,2195

Exemplul 47. 3-(5-Cloro-2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-N-(4-hidroxifenil)-N-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

5 Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=69,72:69,53; %H=5,53:5,6; %N=11,29:10,85

Exemplul 48. N-(4-Hidroxifenil)-3-(7-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-il)-N-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

10 Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=70,9:70,89; %H=5,79:5,56; %N=10,88:10,8

Exemplul 49. Hidroclorură de 3-(5-Cloro-2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-N-(4-hidroxifenil)-N-(piridin-4-il)indolizină-1-carboxamidă

15 Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=68,42:68,17; %H=4,65:4,48; %N=8,63:8,48; %Cl=5,46:5,13

Exemplul 50. 3-(5-Cloro-2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-N-(4-hidroxifenil)-N-(1-metil-1H-pirol[2,3-b]piridin-5-il)indolizină-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=72,12:71,58; %H=4,84:4,84; %N=10,51:10,48

20 **Exemplul 51.** Hidroclorură de N-(4-hidroxifenil)-N-(imidazo[1,2-a]piridin-7-il)-3-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)indolizină-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=68,81:68,28; %H=4,62:4,59; %N=10,03:9,66; %Cl=5,08:4,81

25 **Exemplul 52.** N-(4-Hidroxifenil)-3-(2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-N-(1-metil-1H-pirol[2,3-b]piridin-5-il)indolizină-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=76,05:75,88; %H=5,26:5,24; %N=11,09:11,09

30 **Exemplul 53.** Hidroclorură de N-(4-hidroxifenil)-3-(6-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(2-metilimidazo[1,2-a]piridin-7-il)indolizină-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=69,14:69,65; %H=4,81:4,75; %N=9,83:9,79; %Cl=4,98:4,7

35 **Exemplul 54.** Hidroclorură de N-(4-hidroxifenil)-3-(6-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(6-metilpiridin-3-il)indolizină-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=69,59:68,78; %H=4,94:5; %N=8,32:8,33; %Cl=5,27:5,18

40 **Exemplul 55.** N-(5-Fluoropiridin-3-il)-N-(4-hidroxifenil)-3-(6-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)indolizină-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=71,24:70,77; %H=4,56:4,36; %N=8,75:8,82

45 **Exemplul 56.** N-(4-Hidroxifenil)-N-(2-metoxipiridin-4-il)-3-(6-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)indolizină-1-carboxamidă

Spectroscopia de masă de înaltă rezoluție (ESI+):

Formula empirică: C₃₉H₃₂N₄O₆

[M+H]⁺, calculat: 653,2395

[M+H]⁺, măsurat: 653,2385

50 **Exemplul 57.** 3-[6-(3,4-Dihidroizochinolin-2(1H)-il)carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-N-(4-hidroxifenil)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: % măsurată (teoretică)

%C=74,17(74,62); %H=5,43(5,44); %N=6,87(6,87)

55 **Exemplul 58.** Hidroclorură de N-(4-hidroxifenil)-3-(6-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-N-[2-(propan-2-il)piridin-4-il]indolizină-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=70,23:69,95; %H=5,32:5,4; %N=7,99:7,99; %Cl=5,06:4,92

Exemplul 59. N-(4-Hidroxifenil)-3-(6-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(pirazolo[1,5-a]pirimidin-6-il)indolizină-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: (% , teoretică:măsurată)

%C=70,68;70,47; %H=4,56;4,61; %N=12,68;12,45

Exemplul 60. 3-(5-Fluoro-2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-N-(4-hidroxifenil)-N-(1-metil-1H-pirazol-4-il)indolizină-1-carboxamidă

5 Microanaliza elementară: % măsurată (teoretică)

%C=71,85(72,11);%H=4,78(5,04);%N=10,79(11,68)

Exemplul 61. 3-(5-Fluoro-2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-N-(4-hidroxifenil)-N-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

10 Microanaliza elementară: % măsurată (teoretică)

%C=72,31(71,62);%H=5,6(5,68);%N=10,94(11,6)

Exemplul 62. 3-(5-Fluoro-2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-N-(4-hidroxifenil)-N-(piridin-4-il)indolizină-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: % măsurată (teoretică)

%C=74,08(74,48);%H=4,82(4,9);%N=8,59(9,39)

15 **Exemplul 63. 3-(5-Fluoro-2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-N-(4-hidroxifenil)-N-(1-metil-1H-pirol[2,3-b]piridin-5-il)indolizină-1-carboxamidă**

Microanaliza elementară: % măsurată (teoretică)

%C=73,14(73,95);%H=4,83(4,96);%N=10,29(10,78)

20 **Exemplul 64. 3-(5-Fluoro-2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-N-(4-hidroxifenil)-N-(piridin-4-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă**

Microanaliza elementară: % măsurată (teoretică)

%C=74,61(73,98);%H=5,26(5,54);%N=8,94(9,33)

25 **Exemplul 65. 3-(5-Fluoro-2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-N-(4-hidroxifenil)-N-(1-metil-1H-pirol[2,3-b]piridin-5-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă**

Microanaliza elementară: % măsurată (teoretică)

%C=73,59(73,49);%H=5,22(5,55);%N=9,93(10,71)

30 **Exemplul 66. N-(4-Hidroxifenil)-3-(6-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-N-([1,2,4]triazol[1,5-a]pirimidin-6-il)indolizină-1-carboxamidă**

Microanaliza elementară: % măsurată (teoretică)

%C=68,57(68,77);%H=3,92(4,4);%N=14,21(14,77)

Spectroscopia de masă de înaltă rezoluție (ESI+):

Formula empirică: C₃₈H₂₉N₇O₅

35 [M+H]⁺, calculat: 664,2303

[M+H]⁺, măsurat: 664,2310

Exemplul 67. N-(4-Hidroxifenil)-3-(6-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(1-oxidopiridin-4-il)indolizină-1-carboxamidă

Microanaliza elementară: % măsurată (teoretică)

40 %C=69,7(71,46);%H=4,43(4,73);%N=8,54(8,77)

Spectroscopia de masă de înaltă rezoluție (ESI+):

Formula empirică: C₃₈H₃₀N₄O₆

[M+H]⁺, calculat: 639,2238

[M+H]⁺, măsurat: 639,2234

45 **Exemplul 68. Hidroclorură de N-(4-Hidroxifenil)-3-(2-[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]fenil)-N-(piridin-4-il)indolizină-1-carboxamidă**

Microanaliza elementară: % măsurată (teoretică)

%C=71,97(72,25);%H=5,21(5,08);%N=8,99(9,11);%Cl=5,32(5,76)

Spectroscopia de masă de înaltă rezoluție (ESI+):

50 Formula empirică: C₃₇H₃₀N₄O₃

[M+H]⁺, calculat: 579,2391

[M+H]⁺, măsurat: 579,2403

Exemplul 69. Hidroclorură de N-(4-hidroxifenil)-N-(1-metil-1H-pirol[2,3-b]piridin-5-il)-3-(6-[[(3R)-3-[3-(morfolin-4-il)propil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

55 Microanaliza elementară: % măsurată (teoretică)

%C=67,63(68,06);%H=5,27(5,95);%N=10,08(10,13);%Cl=4,53(4,27)

Spectroscopia de masă de înaltă rezoluție (ESI+):

Formula empirică: C₄₇H₄₈N₆O₆

[M+H]⁺, calculat: 793,3708

[M+H]⁺, măsurat: 793,3704

Exemplul 70. N-(4-Hidroxifenil)-3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-N-(1-metil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-5-il)indolizină-1-carboxamidă

Etapa A: N-[4-[terț-Butil(dimetil)silil]oxifenil]-3-[6-[(3R)-3-metil-3,4-dihidro-1H-izochinolină-2-carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-N-(1-metil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-5-il)indolizină-1-carboxamidă

Produsul din titlu este obținut în conformitate cu procedeul din Etapa A a Exemplului 86, substituind compusul din Procedeul de obținere 36" cu cel din Procedeul de obținere 35".

CLSM: [M+H]⁺ = 791,4 vs. 791,3 calculat

Etapa B: N-(4-Hidroxifenil)-3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-N-(1-metil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-5-il)indolizină-1-carboxamidă

Procedura este în conformitate cu un protocol similar celui descris în Etapa D a Exemplului 1. Produsul astfel obținut este supus unei etape de transformare în sare în prezența HCl în eter.

IR (RTA) cm⁻¹: 2500 - 3000 ν-OH, 1614 ν >C=O amide, 1236 ν >C-O-C<, 740 Γ >CH-Ar

Microanaliza elementară: % măsurată (teoretică)

%C=71,07(70,99); %H=4,45(4,77); %N=12,37(12,42)

Spectroscopia de masă de înaltă rezoluție (ESI+):

Formula empirică: C₄₀H₃₂N₆O₅

[M+H]⁺, calculat: 677,2507

[M+H]⁺, măsurat: 677,2510

Exemplul 71. Clorură de 4-[(4-hidroxifenil){3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]indolizin-1-il]carbonil}amino]-1-metilpiridiniu

Etapa A: Iodură de 4-[(4-hidroxifenil){3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]indolizin-1-il]carbonil}amino]-1-metil piridiniu

Se dizolvă compusul din Exemplul 21 (311 mg, 0,5 mmol) în diclormetan și se spală cu soluție apoasă saturată de hidrogenocarbonat de sodiu. După uscarea fazei organice pe sulfat de magneziu și evaporarea până la uscare, reziduul se dizolvă în etanol (30 ml). Apoi se adaugă iodură de metil (45 μl, 0,7 mmol) și amestecul de reacție se încălzește până la 40 °C. Soluția astfel obținută este evaporată până la uscare. Produsul de reacție brut este purificat pe coloană de silicagel cu ajutorul diclormetanului și metanolului în calitate de solvenți. Compusul este obținut sub formă de pudră albă, care este utilizată direct în următoarea etapă.

RMN ¹H (500 MHz, dmsO-d₆) δ ppm: 9,95 (bs, 1 H), 8,6-8,45 (m, 2 H), 8,35-8,05 (câțiva m, 1 H), 8,3-8 (câțiva m, 1 H), 7,45-6,7 (câțiva m, 8 H), 7,4-6,9 (câțiva m, 4 H), 6,45-6,3 (câțiva s, 1 H), 6,45-6,3 (m, 2 H), 6,15 (s, 2 H), 5,05-3,55 (câțiva d, 2 H), 4,75/3,8 (m+m, 1 H), 4,15 (2*s, 3 H), 2,95-2,1 (câțiva m, 2 H), 1,0,15 (câțiva m, 3 H)

Etapa B: Clorură de piridiniu 4-[(4-hidroxifenil){3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]indolizin-1-il]carbonil}amino]-1-metil

Compusul din etapa precedentă (320 g, 0,42 mmol) se dizolvă în metanol (20 ml) și apoi se adaugă, în porții, carbonat de argint (173 g, 0,628 mmol), în decursul a 10 minute. Suspensia rezultată se agită la temperatura ambiantă timp de o oră; precipitatul se filtrează și se spală cu metanol. Filtratul se concentrează până la uscare, și apoi se tratează cu 50 ml de soluție de acid clorhidric 2N, se încălzește la 60°C timp de 30 minute și apoi se evaporă până la uscare. Produsul final este obținut după purificare pe coloană de silice C18 folosind o soluție de acid clorhidric 0,1% și acetonitril în calitate de solvenți. Compusul din titlu este obținut sub formă de pudră albă, care este liofilizată într-un amestec de apă/acetonitril.

IR (RTA) cm⁻¹: 3388 ν -OH fenol, 1650 + 1627 ν >C=O amide

Spectroscopia de masă de înaltă rezoluție (ESI+):

Formula empirică: C₃₉H₃₃N₄O₅

[M]⁺, calculat = 637,2445.

[M]⁺, măsurat = 637,2431

Compușii din Exemplele 72, 73, 77, 78-80, 84 și 85 sunt sintetizați în conformitate cu procedeul din Exemplul 3, folosind acidul din Procedeul de obținere 7, 1,2,3,4-tetrahidroizochinolina corespunzătoare sau compusul corespunzător obținut în conformitate cu una din Procedelee de obținere 1' - 7', și amina adecvată NHR₃R₄.

Exemplul 72. N-(4-Hidroxifenil)-N-metil-6-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-1,2,3,4-tetrahidropirolol[1,2-a]pirazină-8-carboxamidă

CL/SM ($C_{33}H_{32}N_4O_5$) 565 [M+H]⁺; TR 1,47 (Procedeul B), înțelegându-se că TR semnifică timpul de retenție

Exemplul 73. N-Etil-N-(4-hidroxifenil)-6-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-1,2,3,4-tetrahidropirolol[1,2-a]pirazină-8-carboxamidă

CL/SM ($C_{34}H_{34}N_4O_5$) 579 [M+H]⁺; TR 1,55 (Procedeul B)

Exemplul 74. 3-[6-(3,4-Dihidroizochinolin-2(1H)-ilcarbonil)-1,3-benzodioxol-5-il]-N-(4-hidroxifenil)-N-metil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

CL/SM ($C_{33}H_{31}N_3O_5$) 550 [M+H]⁺; TR 1,24 (Procedeul B)

Exemplul 75. 3-[6-(3,4-Dihidroizochinolin-2(1H)-ilcarbonil)-1,3-benzodioxol-5-il]-N-etil-N-(4-hidroxifenil)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

CL/SM ($C_{34}H_{33}N_3O_5$) 564 [M+H]⁺; TR 1,30 (Procedeul B)

Exemplul 76. N-Butil-3-[6-(3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-ilcarbonil)-1,3-benzodioxol-5-il]-N-(4-hidroxifenil)-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

CL/SM ($C_{36}H_{37}N_3O_5$) 592 [M+H]⁺; TR 1,39 (Procedeul B)

Exemplul 77. N-Etil-N-(4-hidroxifenil)-6-(6-[[[(3S)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-1,2,3,4-tetrahidropirolol[1,2-a]pirazină-8-carboxamidă

CL/SM ($C_{34}H_{34}N_4O_5$) 579 [M+H]⁺; TR 1,50 (Procedeul B)

Exemplul 78. N,N-Dibutil-6-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-1,2,3,4-tetrahidropirolol[1,2-a]pirazină-8-carboxamidă

CL/SM ($C_{34}H_{42}N_4O_4$) 571 [M+H]⁺; TR 1,79 (Procedeul B)

Exemplul 79. N-Butil-N-(4-hidroxifenil)-6-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-1,2,3,4-tetrahidropirolol[1,2-a]pirazină-8-carboxamidă

CL/SM ($C_{36}H_{38}N_4O_5$) 607 [M+H]⁺; TR 1,65 (Procedeul B)

Exemplul 80. N-(4-Hidroxifenil)-6-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-N-(propan-2-il)-1,2,3,4-tetrahidropirolol[1,2-a]pirazină-8-carboxamidă

CL/SM ($C_{35}H_{36}N_4O_5$) 593 [M+H]⁺; TR 1,58 (Procedeul B)

Exemplul 81. N-(4-Hidroxifenil)-N-metil-3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

CL/SM ($C_{34}H_{33}N_3O_5$) 564 [M+H]⁺; TR 2,48 (Procedeul A)

Exemplul 82. N-(4-Hidroxifenil)-N-metil-3-(6-[[[(3S)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă

CL/SM ($C_{34}H_{33}N_3O_5$) 564 [M+H]⁺; TR 2,55 (Procedeul A)

Exemplul 83. 3-[6-(3,4-Dihidroizochinolin-2(1H)-ilcarbonil)-1,3-benzodioxol-5-il]-N-(4-hidroxifenil)-N-metilindolizină-1-carboxamidă

CL/SM ($C_{33}H_{27}N_3O_5$) 546 [M+H]⁺; TR 2,40 (Procedeul A)

Exemplul 84. 6-[6-(3,4-Dihidroizochinolin-2(1H)-ilcarbonil)-1,3-benzodioxol-5-il]-N-(4-hidroxifenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidropirolol[1,2-a]pirazină-8-carboxamidă

CL/SM ($C_{32}H_{30}N_4O_5$) 551 [M+H]⁺; TR 1,45 (Procedeul B)

Exemplul 85. 6-[6-(3,4-Dihidroizochinolin-2(1H)-ilcarbonil)-1,3-benzodioxol-5-il]-N-etil-N-(4-hidroxifenil)-1,2,3,4-tetrahidropirolol[1,2-a]pirazină-8-carboxamidă

CL/SM ($C_{33}H_{32}N_4O_5$) 565 [M+H]⁺; TR 1,49 (Procedeul B)

Exemplul 86. Hidroclorură de N-(4-Hidroxifenil)-3-[6-[(3R)-3-metil-3,4-dihidro-1H-izochinolină-2-carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-N-(3-metilpirazolo[1,5-a]pirimidin-6-il)indolizină-1-carboxamidă

Etapa A: N-[4-[terț-Butil(dimetil)silil]oxifenil]-3-[6-[(3R)-3-metil-3,4-dihidro-1H-izochinolină-2-carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-N-(3-metilpirazolo[1,5-a]pirimidin-6-il)indolizină-1-carboxamidă

La o soluție de 0,6 g de acid 3-(6-[[[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]indolizină-1-carboxilic (1,3 mmol) în 6 ml de diclorețan se adaugă 0,18 ml de 1-cloro-N,N,2-trimetil-prop-1-en-1-amină (2 mmol). Amestecul de reacție se agită la temperatura ambiantă timp de 2 ore, și apoi se adaugă 0,8 g de compus din Procedeul de obținere 36" (2,2 mmol). Amestecul se încălzește la reflux timp de 20 ore și apoi se răcește și se diluează cu un amestec de diclormetan și soluție saturată de NaHCO₃. După separarea fazelor, faza organică se

usucă pe MgSO_4 și se concentrează până la uscare. Produsul brut astfel obținut se purifică prin cromatografie pe silicagel (gradient diclormetan/metanol).

CL/SM: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 791,4$ vs. $791,3$ calculat

5 Etapa B: Hidroclorură de N-(4-hidroxifenil)-3-[6-[(3R)-3-metil-3,4-dihidro-1H-izochinolină-2-carbonil]-1,3-benzodioxol-5-il]-N-(3-metilpirazolo[1,5-a]pirimidin-6-il)indolizină-1-carboxamidă

Procedura este în conformitate cu un protocol similar celui descris în Etapa D a Exemplului 1. Produsul astfel obținut este supus unei etape de transformare în sare în prezența HCl în eter.

IR (RTA) cm^{-1} : 2500 - 3000 ν -OH, 1614 ν $>\text{C}=\text{O}$ amide, 1236 ν $>\text{C}-\text{O}-\text{C}<$,

10 740 γ $>\text{CH}-\text{Ar}$

Spectroscopia de masă de înaltă rezoluție (ESI+):

Formula empirică: $\text{C}_{40}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_5$

$[\text{M}+\text{H}]^+$, calculat: 677,2507

$[\text{M}+\text{H}]^+$, măsurat: 677,2506

15 STUDIU FARMACOLOGIC

EXEMPLUL A: Inhibarea Bcl-2 prin tehnica de polarizare fluorescentă

Testele de polarizare fluorescentă au fost efectuate pe microplăci (384 de godeuri). Proteina Bcl-2, etichetată (histag-Bcl-2 astfel încât Bcl-2 corespunde numărului de acces primar UniProtKB®: P10415), într-o concentrație finală de $2,50 \times 10^{-8}$ M, este amestecată cu o peptidă fluorescentă (Fluorescein-REIGAQLRRMADDLNAQY), într-o concentrație finală de $1,00 \times 10^{-8}$ M într-o soluție tampon (Hepes 10 mM, NaCl 150 mM, Tween20 0,05%, pH 7,4), în prezența sau absența concentrațiilor crescânde de compuși testați. După incubarea timp de 2 ore, se măsoară polarizarea fluorescentă.

25 Rezultatele sunt exprimate în IC_{50} (concentrația compusului care inhibă polarizarea fluorescentă cu 50%) și sunt prezentate în Tabelul 1 de mai jos.

Rezultatele arată că compușii din invenție inhibă interacțiunea dintre proteina Bcl-2 și peptida fluorescentă descrisă mai sus.

EXEMPLUL B: Citotoxicitatea *in vitro*

Studiile de citotoxicitate au fost efectuate pe linia celulară a tumorii leucemice RS4;11.

30 Celulele sunt distribuite pe microplăci și expuse compușilor testați timp de 48 de ore. Viabilitatea celulară este apoi cuantificată printr-o analiză colorimetrică, Microculture Tetrazolium Assay (Cancer Res., 1987, no.47, p. 939-942).

Rezultatele sunt exprimate în IC_{50} (concentrația compusului care inhibă viabilitatea celulară cu 50%) și sunt prezentate în Tabelul 1 de mai jos.

35 Rezultatele arată că compușii din invenție sunt citotoxici.

RS4;11 IC_{50} a inhibării Bcl-2 (testul de polarizare fluorescentă) și a citotoxicității pentru celulele RS4;11

Tabelul 1

	IC_{50} (nM) Bcl-2 FP	IC_{50} (nM) MTT RS4;11		IC_{50} (nM) Bcl-2 FP	IC_{50} (nM) MTT RS4;11
Exemplul 1	17,9	11,3	Exemplul 29	19,0	163
Exemplul 2	17,0	36	Exemplul 30	10,4	52,3
Exemplul 3	33,6	66,5	Exemplul 31	5,4	13,7
Exemplul 4	56,4	251	Exemplul 32	5,0	32,7
Exemplul 5	55,9	416	Exemplul 33	4,6	6,33
Exemplul 6	60,3	161	Exemplul 34	5,6	27,3
Exemplul 7	46,4	108	Exemplul 35	15,1	62,2
Exemplul 8	24,5	20,5	Exemplul 36	12,6	49,7
Exemplul 9	40,6	780	Exemplul 37	2,9	24,7
Exemplul 10	24,7	439	Exemplul 38	4,6	9,52

MD 4643 C1 2020.03.31

41

Exemplul 11	10,9	83,7	Exemplul 39	4,6	26,3
Exemplul 12	10,4	116	Exemplul 40	6,0	49
Exemplul 13	5,8	33,65	Exemplul 41	41,5	294
Exemplul 14	3,7	7,6	Exemplul 42	5,1	57,6
Exemplul 15	5,7	166	Exemplul 43	4,8	26
Exemplul 16	7,5	252	Exemplul 44	2,9	8,56
Exemplul 17	3,4	11,8	Exemplul 45	3,8	63,8
Exemplul 18	7,5	47,7	Exemplul 46	4,1	27,9
Exemplul 19	8,0	235	Exemplul 47	4,3	90,1
Exemplul 20	11,1	205	Exemplul 48	3,6	24,7
Exemplul 21	4,6	25,3	Exemplul 49	3,7	84,7
Exemplul 22	12,9	263	Exemplul 50	2,2	28,2
Exemplul 23	3,8	9,99	Exemplul 51	4,8	68,8
Exemplul 24	6,2	28,4	Exemplul 52	7,9	20,9
Exemplul 25	7,9	30	Exemplul 53	5,4	70,9
Exemplul 26	16,6	300	Exemplul 54	6,6	45
Exemplul 27	7,7	44,1	Exemplul 55	5,5	22,8
Exemplul 28	8,8	112	Exemplul 56	4,7	36,7
	IC ₅₀ (nM) Bcl-2 FP	IC ₅₀ (nM) MTT RS4;11		IC ₅₀ (nM) Bcl-2 FP	IC ₅₀ (nM) MTT RS4;11
Exemplul 57	21,2	282	Exemplul 72	90,2	1520
Exemplul 58	6,4	68,5	Exemplul 73	83,6	1320
Exemplul 59	4,0	21,2	Exemplul 74	68,7	1340
Exemplul 60	5,4	60,3	Exemplul 75	67,7	1360
Exemplul 61	7,0	61,3	Exemplul 76	77,6	1630
Exemplul 62	5,6	96,6	Exemplul 77	25,1% @10 μM	1880
Exemplul 63	6,2	25,4	Exemplul 78	823,3	1880
Exemplul 64	7,8	282	Exemplul 79	99,1	1010
Exemplul 65	5,3	62,8	Exemplul 80	299,3	1880
Exemplul 66	4,7	42	Exemplul 81	12,1	778
Exemplul 67	ND	ND	Exemplul 82	42% @10 μM	1880
Exemplul 68	8,3	82,4	Exemplul 83	35,8	1500

Exemplul 69	4,6	1,38	Exemplul 84	524,9	ND
Exemplul 70	5,2	6,17	Exemplul 85	242,7	ND
Exemplul 71	49	ND	Exemplul 86	5	20,1

ND: nedeterminat

Pentru inhibitorii parțiali este indicat procentajul inhibării polarizării fluorescente pentru o anumită concentrație a compusului testat. În mod corespunzător, 25,1% @10 μ M semnifică că 25,1% inhibare a polarizării fluorescente este observată pentru o concentrație a compusului testat egală cu 10 μ M.

5

EXEMPLUL C: Inducția activității caspazei *in vivo*

Capacitatea compușilor din invenție de a activa caspaza 3 este evaluată într-un model de xenogrefă a celulelor leucemice RS4;11.

1x10⁷ de celule RS4;11 sunt grefate subcutanat în șoareci imunodeprimați (tulpina SCID). Peste 25...30 zile după grefă, animalele sunt tratate oral cu diverși compuși. Peste 16 ore după tratament, masele tumorale sunt recuperate și se lizează, și activitatea caspazei 3 este măsurată în lizatele tumorale.

10

Această măsurare enzimatică se efectuează prin analiza aspectului unui produs de clivaj fluorogenic (activitatea DEVDase, Promega). Acesta este exprimată sub forma unui factor de activare, care corespunde raportului dintre cele două activități ale caspazei: activitatea șoarecilor tratați împărțită la activitatea șoarecilor de control.

15

Rezultatele obținute arată că compușii din invenție sunt capabili să inducă apoptoza în celulele tumorale RS4;11 *in vivo*.

EXEMPLUL D: Cuantificarea formei clivate a caspazei 3 *in vivo*

Capacitatea compușilor din invenție de a activa caspaza 3 este evaluată într-un model de xenogrefă a celulelor leucemice RS4;11.

20

1x10⁷ de celule RS4;11 sunt grefate subcutanat în șoarecii imunodeprimați (tulpina SCID). Peste 25...30 zile după grefă, animalele sunt tratate oral cu diverși compuși. După tratament, masele tumorale sunt recuperate (după o perioadă de timp T) și se lizează, iar forma clivată (activată) a caspazei 3 este cuantificată în lizatele tumorale.

25

Cuantificarea se efectuează cu ajutorul testului "Meso Scale Discovery (MSD) ELISA platform", care testează în mod specific forma clivată a caspazei 3. Aceasta este exprimată sub forma unui factor de activare, care corespunde raportului dintre cantitatea caspazei clivate 3 în șoarecii tratați împărțită la cantitatea caspazei clivate 3 în șoarecii de control.

30

Rezultatele arată că compușii din invenție sunt capabili să inducă apoptoza în celulele tumorale RS4;11 *in vivo*.

Factorii de activare a caspazei (testul MSD a caspazei 3 clivate în tumorile șoarecilor tratați față de șoarecii de control) *in vivo*, după tratamentul pe cale orală (dozele exacte sunt indicate între paranteze)

Tabelul 2

Compusul testat	Perioada de timp după care tumoarea este înlăturată (T)	Factorul de activare ± SEM (versus control)
Exemplul 2	6 ore	14,6 (50 mg/kg)
Exemplul 13	2 ore	23,1 (50 mg/kg)
Exemplul 17	2 ore	15,3 (50 mg/kg)
Exemplul 21	2 ore	24,8 ± 1,4 (50 mg/kg)
Exemplul 32	2 ore	54,4 ± 2,8 (25 mg/kg)
Exemplul 33	2 ore	31,1 ± 10,8 (25 mg/kg)
Exemplul 38	2 ore	27,5 ± 2,6 (25 mg/kg)
Exemplul 39	2 ore	34,1 ± 2,4 (25 mg/kg)
Exemplul 42	2 ore	77,5 ± 4,8 (25 mg/kg)
Exemplul 50	2 ore	45,2 ± 3,9 (25 mg/kg)
Exemplul 56	2 ore	10,3 ± 4,2 (25 mg/kg)

5

EXEMPLUL E: Activitatea anti-tumorală *in vivo*

Activitatea anti-tumorală a compușilor invenției este evaluată într-un model de xenogrefă a celulelor leucemice RS4;11.

10 1×10^7 de celule RS4;11 sunt grefate subcutanat în șoarecii imunodeprimați (tulpina SCID). Peste 25...30 zile după grefă, când masa tumorală a ajuns la circa 150 mm³, șoarecii sunt tratați oral cu diferiți compuși în două scheme diferite (tratament zilnic timp de cinci zile pe săptămână în decursul a două săptămâni, sau două tratamente pe săptămână în decursul a două săptămâni). Masa tumorală este măsurată de două ori pe săptămână de la începutul tratamentului.

15 În consecință, rezultatele obținute arată că compușii din invenție sunt capabili să inducă regresia semnificativă a tumorii în timpul perioadei de tratament.

EXEMPLUL F: Compoziție farmaceutică: Comprimate

1000 de comprimate conținând o doză de 5 mg de compus selectat din Exemplele

1...86	5 g
Amidon de grau.....	20 g
Amidon de porumb.....	20 g
Lactoză.....	30 g
Stearat de magneziu.....	2 g
Silice.....	1 g
Hidroxipropilceluloză	2 g

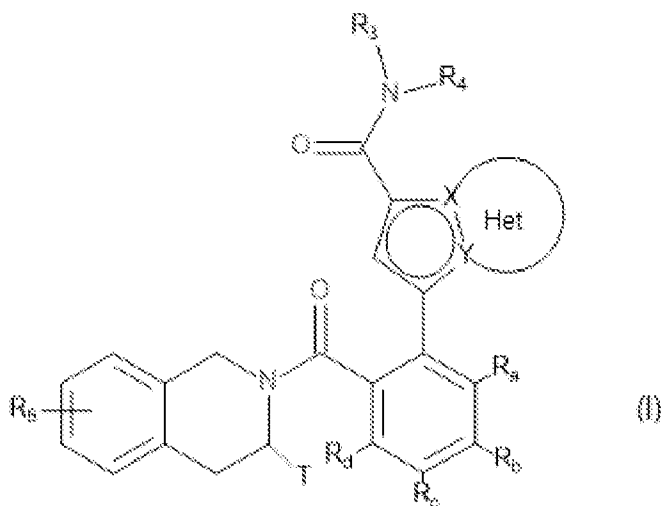
25

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. WO 2012/162365 A1 2012.11.29

(57) Revendicări:

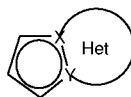
1. Compus cu formula (I):



în care:

♦ X și Y reprezintă un atom de carbon sau un atom de azot, înțelegându-se că ei nu pot să reprezinte simultan doi atomi de carbon sau doi atomi de azot,

♦ fragmentul Het din gruparea  reprezintă un inel aromatic sau nearomatic, compus din 5, 6 sau 7 membri inelari, care pot conține, pe lângă azot, reprezentat de X sau Y, 1-3 heteroatomi selectați independent dintre oxigen, sulf și azot, înțelegându-se că azotul în cauză poate fi substituit cu o grupare ce reprezintă un atom de hidrogen, o grupare alchil (C₁-C₆) liniară sau ramificată sau o grupare C(O)-O-Alk, unde Alk este o grupare alchil (C₁-C₆) liniară sau ramificată,

♦ unde fragmentul Het din gruparea  definit în formula (I) poate fi substituit cu una - trei grupări selectate dintre alchil (C₁-C₆) liniar sau ramificat, hidroxi, alcoxi (C₁-C₆) liniar sau ramificat, NR₁R₁' și halogen, înțelegându-se că R₁' și R₁'', fiecare independent unul de celălalt, reprezintă un atom de hidrogen sau o grupare alchil (C₁-C₆) liniară sau ramificată,

♦ T reprezintă un atom de hidrogen, o grupare alchil (C₁-C₆) liniară sau ramificată, substituită opțional cu unul - trei atomi de halogen, o grupare alchil (C₂-C₄)-NR₁R₂, sau o grupare alchil (C₁-C₄)-OR₆,

♦ R₁ și R₂, independent unul de celălalt, reprezintă un atom de hidrogen sau o grupare alchil (C₁-C₆) liniară sau ramificată,

sau R₁ și R₂ formează cu atomul de azot care îi poartă un heterocicloalchil,

♦ R₃ reprezintă o grupare alchil (C₁-C₆) liniară, aril sau heteroaril, fiind posibil ca ultimele două grupări să fie substituite cu una - trei grupări selectate dintre halogen, alchil (C₁-C₆) liniară sau ramificată, alcoxi (C₁-C₆) liniară sau ramificată și ciano, înțelegându-

se că unul sau mai mulți atomi de carbon din grupările precedente sau atomii de carbon ai substituenților posibili ai acestora pot fi deuterati,

♦ R₄ reprezintă o grupare 4-hidroxifenil, înțelegându-se că unul sau mai mulți atomi de carbon din gruparea precedentă sau atomii de carbon ai substituenților posibili ai acestora pot fi deuterati,

♦ R₅ reprezintă un atom de hidrogen sau halogen, o grupare alchil (C₁-C₆) liniară sau ramificată sau o grupare alcoxi (C₁-C₆) liniară sau ramificată,

♦ R₆ reprezintă un atom de hidrogen sau o grupare alchil (C₁-C₆) liniară sau ramificată,

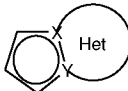
♦ R_a și R_d reprezintă fiecare un atom de hidrogen și (R_b, R_c), împreună cu atomii de carbon care îi poartă, formează o grupare 1,3-dioxolan sau o grupare 1,4-dioxan; sau R_a, R_c și R_d reprezintă fiecare un atom de hidrogen și R_b reprezintă un hidrogen, un halogen, un metil sau un metoxi; sau R_a, R_b și R_d reprezintă fiecare un atom de hidrogen și R_c reprezintă o grupare hidroxi sau metoxi,

înțelegându-se că:

- "aril" înseamnă o grupare fenil, naftil, bifenil sau indenil,
- "heteroaril" înseamnă orice grupare mono- sau biciclică compusă din 5...10 membri inelari, având, cel puțin, un fragment aromatic și conținând 1...4 heteroatomi selectați dintre oxigen, sulf și azot (inclusiv atomi de azot cuaternar),
- "cicloalchil" înseamnă orice grupare mono- sau biciclică, nearomatică, carbociclică care conține 3...10 membri inelari,
- "heterocicloalchil" înseamnă orice grupare mono- sau biciclică, nearomatică, condensată sau spiro, care conține 3...10 membri inelari și 1...3 heteroatomi selectați dintre oxigen, sulf, SO, SO₂ și azot,

fiind posibil ca grupările aril, heteroaril, cicloalchil și heterocicloalchil astfel definite și grupările alchil, alchenil, alchinil și alcoxi să fie substituite cu 1...3 grupări selectate dintre alchil (C₁-C₆) liniar sau ramificat, spiro (C₃-C₆), alcoxi (C₁-C₆) liniar sau ramificat, alchil (C₁-C₆)-S, hidroxi, oxo (sau N-oxid, după caz), nitro, ciano, -COOR', -OCOR', NR'R'', polihaloalchil (C₁-C₆) liniar sau ramificat, trifluorometoxi, alchilsulfonil (C₁-C₆), halogen, aril, heteroaril, ariloxi, ariltio, cicloalchil, heterocicloalchil substituite opțional cu unul sau mai mulți atomi de halogen sau grupări alchil, înțelegându-se că R' și R'', fiecare independent unul de celălalt, reprezintă un atom de hidrogen sau o grupare alchil (C₁-C₆) liniară sau ramificată,

enantiomerii și diastereoizomerii lor, și sărurile de adiție ale acestora cu un acid sau o bază acceptabilă farmaceutic.

2. Compus cu formula (I), conform revendicării 1, unde gruparea  reprezintă una din

următoarele grupări: 5,6,7,8-tetrahidroindolizină, substituită opțional cu o grupare amino; indolizină; 1,2,3,4-tetrahidropirol[1,2-a]pirazină, substituită opțional cu un metil; pirol[1,2-a]pirimidină.

3. Compus cu formula (I), conform revendicării 1 sau 2, unde T reprezintă un atom de hidrogen, o grupare metil, o grupare 2-(morfolin-4-il)etil, 3-(morfolin-4-il)propil, -CH₂-OH, 2-aminoetil, 2-(3,3-difluoropiperidin-1-il)etil, 2-[(2,2-difluoroetil)amino]etil sau 2-(3-metoxiazetidină-1-il)etil.

4. Compus cu formula (I), conform uneia din revendicările 1-3, unde R₃ reprezintă o grupare heteroaril, selectată din următoarea grupă: 1H-indol, 2,3-dihidro-1H-indol, 1H-indazol, piridină, 1H-pirol[2,3-b]piridină, 1H-pirazol, imidazo[1,2-a]piridină, pirazolo[1,5-a]pirimidină, [1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidină, și 1H-pirazolo[3,4-b]piridină, fiind posibil ca toate să fie substituite cu o grupare alchil (C₁-C₆) liniară sau ramificată.

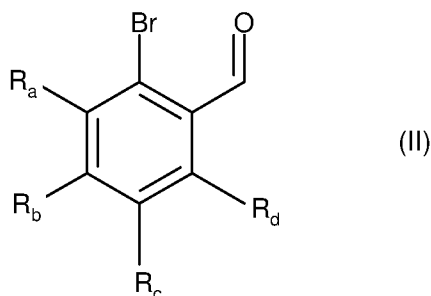
5. Compuși cu formula (I), conform revendicării 1, selectați din următoarea grupă:

- N-(4-hidroxifenil)-3-(6-{[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil}-1,3-benzodioxol-5-il)-N-{1-[2-(morfolin-4-il)etil]-1H-indol-5-il}-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă,
- N-(4-hidroxifenil)-3-(6-{[(3S)-3-[2-(morfolin-4-il)etil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil}-1,3-benzodioxol-5-il)-N-fenil-5,6,7,8-tetrahidroindolizină-1-carboxamidă,
- N-{3-fluoro-4-[2-(morfolin-4-il)etoxi]fenil}-N-(4-hidroxifenil)-3-(6-{[(3R)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il]carbonil}-1,3-benzodioxol-5-il)indolizină-1-carboxamidă,

- *N*-(4-hidroxifenil)-3-(6-{[(3*R*)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1*H*)-il]carbonil}-1,3-benzodioxol-5-il)-*N*-(piridin-4-il)indolizină-1-carboxamidă,
- *N*-(4-hidroxifenil)-3-(6-{[(3*R*)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1*H*)-il]carbonil}-1,3-benzodioxol-5-il)-*N*-(2-metilpiridin-4-il)indolizină-1-carboxamidă,
- *N*-(4-hidroxifenil)-3-(6-{[(3*R*)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1*H*)-il]carbonil}-1,3-benzodioxol-5-il)-*N*-(1-metil-1*H*-pirolo[2,3-*b*]piridin-5-il)indolizină-1-carboxamidă,
- *N*-(4-hidroxifenil)-3-(6-{[(3*R*)-3-[3-(morfolin-4-il)propil]-3,4-dihidroizochinolin-2(1*H*)-il]carbonil}-1,3-benzodioxol-5-il)-*N*-fenil-5,6,7,8-tetrahydroindolizină-1-carboxamidă,
- *N*-(2,6-dimetilpiridin-4-il)-*N*-(4-hidroxifenil)-3-(6-{[(3*R*)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1*H*)-il]carbonil}-1,3-benzodioxol-5-il)indolizină-1-carboxamidă,
- *N*-(4-hidroxifenil)-3-(6-{[(3*R*)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1*H*)-il]carbonil}-1,3-benzodioxol-5-il)-*N*-(piridin-4-il)-5,6,7,8-tetrahydroindolizină-1-carboxamidă,
- 3-(5-cloro-2-{[(3*R*)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1*H*)-il]carbonil}fenil)-*N*-(4-hidroxifenil)-*N*-(1-metil-1*H*-pirolo[2,3-*b*]piridin-5-il)indolizină-1-carboxamidă,
- *N*-(4-hidroxifenil)-*N*-(2-metoxipiridin-4-il)-3-(6-{[(3*R*)-3-metil-3,4-dihidroizochinolin-2(1*H*)-il]carbonil}-1,3-benzodioxol-5-il)indolizină-1-carboxamidă,

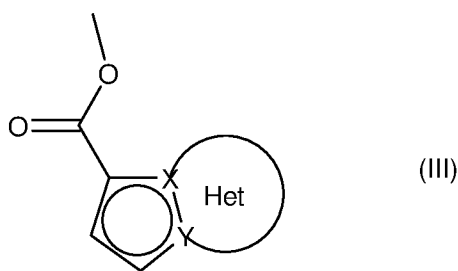
enantiomerii și diastereoizomerii lor, și sărurile de adiție ale acestora cu un acid sau o bază acceptabilă farmaceutic.

6. Procedeu de obținere a compușilor cu formula (I), conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** în calitate de material inițial se folosește compusul cu formula (II):

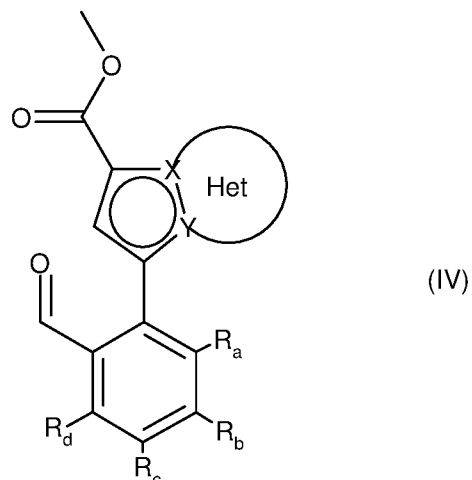


în care R_a , R_b , R_c și R_d au definițiile ca pentru formula (I),

compusul cu formula (II) fiind supus unei reacții Heck, într-un mediu apos sau organic, în prezența unui catalizator de paladiu, unei baze, unei fosfine și a compusului cu formula (III):

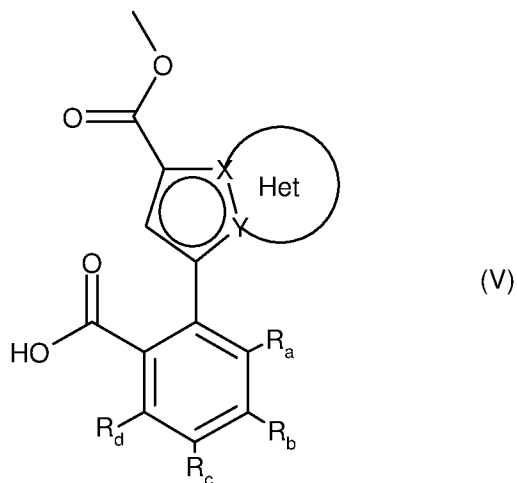


în care grupările X, Y și Het au definițiile ca pentru formula (I), pentru a obține compusul cu formula (IV):



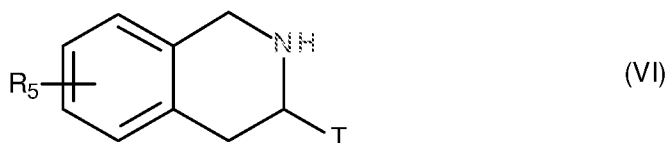
în care R_a , R_b , R_c , R_d , X, Y și Het au definițiile ca pentru formula (I),

funcția aldehydă a compusului cu formula (IV) fiind oxidată până la acidul carboxilic pentru a forma compusul cu formula (V):



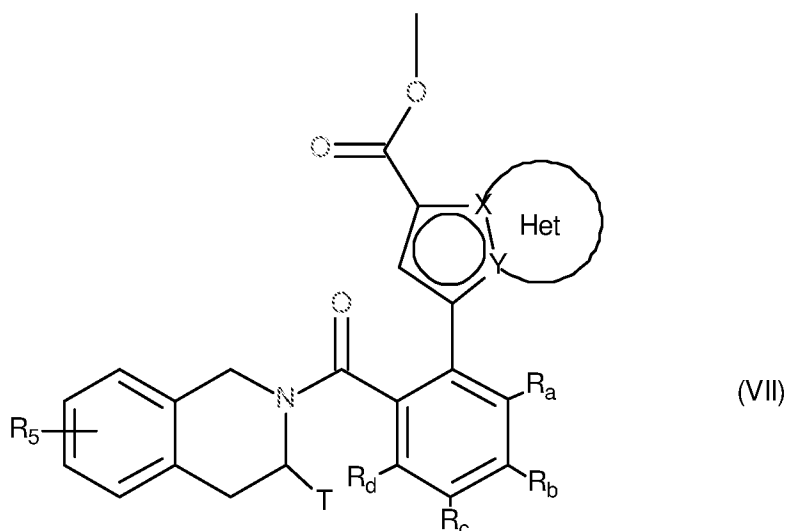
în care R_a , R_b , R_c , R_d , X, Y și Het au definițiile ca pentru formula (I),

compusul cu formula (V) fiind apoi supus cuplării peptidice cu un compus cu formula (VI):



în care T și R_5 au definițiile ca pentru formula (I),

pentru a obține compusul cu formula (VII):



în care R_a , R_b , R_c , R_d , T , R_5 , X , Y și Het au definițiile ca pentru formula (I),

funcția ester a compusului cu formula (VII) este hidrolizată pentru a se obține acidul carboxilic sau carboxilatul corespunzător, care poate fi transformat într-un derivat de acid, cum ar fi clorura de acil sau anhidrida corespunzătoare înainte de a fi cuplat cu o amină NHR_3R_4 , în care R_3 și R_4 au aceleași semnificații ca pentru formula (I), pentru a se obține compusul cu formula (I),

compusul cu formula (I) poate fi purificat conform unei tehnici de separare convenționale, care este transformat, la dorință, în sărurile sale de adiție cu un acid sau o bază acceptabilă farmaceutic și care este opțional separat în izomerii săi conform unei tehnici de separare convenționale,

înțelegându-se că în orice moment considerat oportun în cursul procedurii descris mai sus, anumite grupări (hidroxi, amino ...) de reactivi sau intermediari de sinteză pot fi protejate și apoi deprotejate în conformitate cu cerințele de sinteză.

7. Procedeu, conform revendicării 6, pentru obținerea unui compus cu formula (I), unde una din grupările R_3 sau R_4 este substituită cu o funcție hidroxi, **caracterizată prin aceea că** amina NHR_3R_4 este supusă în prealabil unei reacții de protejare a funcției hidroxi înainte de orice cuplare cu acidul carboxilic format din compusul cu formula (VII), sau cu un derivat al acidului corespunzător al acestuia, compusul protejat rezultat cu formula (I) este supus ulterior unei reacții de deprotejare și apoi este transformat opțional într-una din sărurile sale de adiție cu un acid sau o bază acceptabilă farmaceutic.

8. Compoziție farmaceutică care conține un compus cu formula (I), conform uneia din revendicările 1-5 sau o sare de adiție a acestuia cu un acid sau o bază acceptabilă farmaceutic în combinație cu unul sau mai mulți excipienți acceptabili farmaceutic.

9. Compoziție farmaceutică, conform revendicării 8, pentru utilizare în calitate de agent proapoptotic.

10. Compoziție farmaceutică, conform revendicării 8, pentru utilizare în tratamentul tipurilor de cancer, afecțiunilor autoimune și afecțiunilor sistemului imunitar.

11. Compoziție farmaceutică, conform revendicării 8, pentru utilizare în tratamentul tipurilor de cancer de vezică urinară, cancerului cerebral, mamar și de uter, leucemiilor limfoide cronice, cancerului colorectal, formelor de cancer de esofag și ficat, leucemiilor limfoblastice, limfoamelor non-Hodgkin, melanoamelor, hemopatiilor maligne, mieloamelor, cancerului ovarian, cancerului pulmonar altul decât cu celule mici, cancerului de prostată și cancerului pulmonar cu celule mici.

12. Compus cu formula (I), conform uneia din revendicările 1-5, sau o sare de adiție a acestuia cu un acid sau o bază acceptabilă farmaceutic, pentru utilizarea în tratamentul tipurilor de cancer de vezică urinară, cancerului cerebral, mamar și de uter, leucemiilor limfoide cronice, cancerului colorectal, formelor de cancer de esofag și ficat, leucemiilor limfoblastice, limfoamelor non-Hodgkin, melanoamelor, hemopatiilor maligne, mieloamelor, cancerului ovarian, cancerului pulmonar altul decât cu celule mici, cancerului de prostată și cancerului pulmonar cu celule mici.

13. Combinație de un compus cu formula (I), conform uneia din revendicările 1-5 cu un agent anticanceros selectat dintre agenții genotoxici, toxinele mitotice, anti-metaboliți, inhibitori de proteazom, inhibitori de kinază și anticorpi.

14. Compoziție farmaceutică care conține o combinație conform revendicării 13 cu unul sau mai mulți excipienți acceptabili farmaceutic.

15. Combinație, conform revendicării 13, pentru utilizare în tratamentul tipurilor de cancer.

16. Compus cu formula (I), conform uneia din revendicările 1-5 pentru utilizare în asociere cu radioterapia în tratamentul tipurilor de cancer.

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: a 2016 0016 (32) Data de prioritate recunoscută: 2013.07.23
 (22) Data depozit: 2014.07.22 Raport de documentare internațională: ☒ da
 (85) Data deschiderii fazei naționale: 2016.02.16
 (86) Cerere internațională: PCT/FR2014/051885, 2014.07.22
 (87) Publicarea cererii internaționale: WO 2015/011397 A1, 2015.01.29
 (71) Solicitant: **LES LABORATOIRES SERVIER, FR; VERNALIS (R&D) LIMITED, GB**
 (54) **Titlul: Noi compuși de indolizină, procedeu de obținere a lor și compoziții farmaceutice care le conțin**

II. Clasificarea obiectului invenției:

(51) **Int.Cl:** *C07D 471/04* (2006.01) *A61K 31/4985* (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07D 519/00 (2006.01) *A61P 37/00* (2006.01)
A61K 31/4709 (2006.01)

III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)

MD - Intern « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stanga/dreapta): **Int.Cl:** *C07D 471/04* (2006.01) *A61K 31/4985* (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07D 519/00 (2006.01) *A61P 37/00* (2006.01)
A61K 31/4709 (2006.01)

Bcl-2, cancer, indolizină

"Worldwide" (Espacenet): Int.Cl: *C07D 471/04* (2006.01) *A61K 31/4985* (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07D 519/00 (2006.01) *A61P 37/00* (2006.01)
A61K 31/4709 (2006.01)

Bcl-2, cancer, indolizine

EA, CIS (Eapatis): Int.Cl: *C07D 471/04* (2006.01) *A61K 31/4985* (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07D 519/00 (2006.01) *A61P 37/00* (2006.01)
A61K 31/4709 (2006.01)

Bcl-2, рак, индолизин

SU (certificate de autor): Int.Cl: *C07D 471/04* (2006.01) *A61K 31/4985* (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07D 519/00 (2006.01) *A61P 37/00* (2006.01)
A61K 31/4709 (2006.01)

Bcl-2, рак, индолизин

Patsearch – Int.Cl: *C07D 471/04* (2006.01) *A61K 31/4985* (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07D 519/00 (2006.01) *A61P 37/00* (2006.01)
A61K 31/4709 (2006.01)

Bcl-2, cancer, indolizină

IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate

--

V. Documente considerate a fi relevante

Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
X, C	WO 2012/162365 A1 2012.11.29	1-24
A	WO 2006/023778 A2 2006.03.02	1-24
X, P	WO 2013/110890 A1 2013.08.01	1-24

*** categoriile speciale ale documentelor citate:**

A – document care definește stadiul anterior general	T – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria pe care se bazează invenția
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	D – document menționat în descrierea cererii de brevet
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	C – document considerat ca cea mai apropiată soluție
	& – document, care face parte din aceeași familie de brevete
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri

Data finalizării documentării 2019.03.14

Examinator

GROSU Petru

