

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **037533**(13) **B9**

**(12) ИСПРАВЛЕННОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К
ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(15) Информация об исправлении
Версия исправления: 1 (W1 B1)
исправления в формуле: п.7

(48) Дата публикации исправления
2021.05.27, Бюллетень №5'2021

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.04.09

(21) Номер заявки
201990943

(22) Дата подачи заявки
2017.10.13

(51) Int. Cl. **C07D 471/04** (2006.01)
A61K 31/4738 (2006.01)
A61K 31/497 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

**(54) 6,7,8,9-ТЕТРАГИДРО-3Н-ПИРАЗОЛО[4,3-*f*]ИЗОХИНОЛИНОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ,
ПРИМЕНИМЫЕ В ЛЕЧЕНИИ РАКА**

(31) 62/411,799; 62/435,159

(32) 2016.10.24; 2016.12.16

(33) US

(43) 2019.10.31

(86) PCT/EP2017/076191

(87) WO 2018/077630 2018.05.03

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АСТРАЗЕНЕКА АБ (SE)

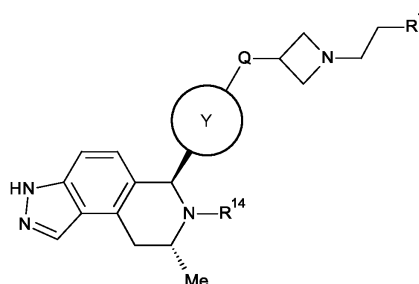
(72) Изобретатель:
**Скотт Джеймс Стюарт, Барлаам
Бернар Кристоф (GB), Ян Бин**

**(US), Мосс Томас Эндрю, Хьюз
Саманта Джейн, Ниссинк Йоханнес
Вилхелмус Мария, О'Донован
Даниэль Хильбранд (GB)**

(74) Представитель:
**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатъев
А.В. (RU)**

(56) WO-A1-2016097072
WO-A1-2016202161
WO-A1-2017174757

(57) Изобретение относится к соединениям формулы (ID)



(ID),

где R^1 , R^{14} , Q и Y являются такими, как определено в формуле изобретения, их фармацевтически приемлемым солям и их применению для предупреждения или лечения рака у теплокровного животного.

B9

037533

037533

B9

Настоящее описание относится к некоторым индазольным соединениям и их фармацевтически приемлемым солям, которые избирательно подавляют функцию рецептора эстрогенов и обладают противоопухолевой активностью. Настоящее описание также относится к применению указанных индазольных соединений и их фармацевтически приемлемых солей в способах лечения организма человека или животного, например в предупреждении или лечении рака. Настоящее описание также относится к способам и промежуточным соединениям, вовлеченным в получение указанных индазольных соединений, и к фармацевтическим композициям, содержащим их.

Рецептор эстрогена альфа (ER α , ESR1, NR3A) и рецептор эстрогена бета (ER β , ESR2, NR3b) представляют собой рецепторы стероидных гормонов, которые являются членами большого семейства ядерных рецепторов. Будучи организованным аналогично всем ядерным рецепторам, ER α состоит из шести функциональных доменов (под названиями от A до F) (Dahlman-Wright, et al., *Pharmacol. Rev.*, 2006, 58:773-781), и его классифицируют как лиганд-зависимый фактор транскрипции, поскольку после связывания со специфическим лигандом (женским половым стероидным гормоном, представляющим собой 17 β -эстрадиол (E2)) комплекс связывается с геномными последовательностями под названием "элементы рецептора эстрогена" (ERE) и взаимодействует с корегуляторами с модуляцией транскрипции целевых генов. Ген ER α расположен в 6q25.1 и кодирует белок 595AA, и множественные изоформы можно получать за счет альтернативных сплайсинга и сайтов инициации трансляции. В дополнение к ДНК-связывающему домену (домен C) и лигандсвязывающему домену (домен E), рецептор содержит N-концевой домен (A/B), шарнирный домен (D), который соединяет домены C и E, и C-концевой удлинённый участок (домен F). В то время как домены C и E из ER α и ER β являются достаточно консервативными (соответственно 96 и 55% идентичности аминокислотной последовательности), консервативность доменов A/B, D и F является низкой (менее 30% идентичности аминокислотной последовательности). Оба рецептора вовлечены в регуляцию и развитие репродуктивного тракта женщины и, кроме того, выполняют функции в центральной нервной системе, сердечно-сосудистой системе и в метаболизме в костной ткани. Геномное действие ER происходит в ядре клетки, когда рецептор связывается с ERE непосредственно (прямая активация или классический путь) или опосредованно (непрямая активация или неклассический путь). В отсутствие лиганда ER связаны с белками теплового шока, Hsp90 и Hsp70, и связанный шаперонный механизм стабилизирует лигандсвязывающий домен (LBD), делая его доступным для лиганда. ER с присоединённым лигандом отделяется от белков теплового шока, приводя к конформационному изменению рецептора, которое делает возможным димеризацию, связывание с ДНК, взаимодействие с коактиваторами или корепрессорами и модуляцию экспрессии целевого гена. В неклассическом пути AP-1 и Sp-1 представляют собой альтернативные регуляторные последовательности ДНК, используемые обеими изоформами рецептора для модуляции экспрессии генов. В этом примере ER не взаимодействует с ДНК непосредственно, а через связывание с другими факторами транскрипции, связанными с ДНК, например c-Jun или c-Fos (Kushner et al., *Pure Applied Chemistry* 2003, 75:1757-1769). Точный механизм, посредством которого ER влияет на транскрипцию генов, плохо изучен, но, по-видимому, он опосредован многочисленными ядерными факторами, которые рекрутируются рецептором, связанным с ДНК. Рекрутинг корегуляторов в основном опосредуется двумя белковыми поверхностями, AF2 и AF1, которые расположены соответственно в E-домене и A/B-домене. AF1 регулируется факторами роста, и его активность зависит от окружения клетки и промотора, при этом активность AF2 полностью зависит от связывания с лигандом. Хотя два домена могут действовать независимо, максимальная транскрипционная активность ER достигается благодаря синергетическим взаимодействиям благодаря двум доменам (Tzukerman, et al., *Mol. Endocrinology*, 1994, 8:21-30). Хотя ER считаются факторами транскрипции, они могут также действовать через негеномные механизмы, о чем свидетельствуют быстрые эффекты ER в тканях после введения E2 в сроки, которые считаются слишком короткими для геномного действия. До сих пор неясно, являются ли рецепторы, ответственные за быстрое действие эстрогена, теми же ядерными ER или другими стероидными рецепторами, связанными с G-белком (Warner, et al., *Steroids* 2006 21:91-95), однако было выявлено растущее число путей, индуцируемых E2, например путь MAPK/ERK, и активация эндотелиальной синтазы оксида азота, и путь PI3K/Akt. В дополнение к лиганд-зависимым путям, показано, что ER α обладает лиганд-независимой активностью, опосредованной AF-1, которую связывают со стимуляцией MAPK посредством опосредованной фактором роста передачи сигнала, например инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1) и эпидермального фактора роста (EGF). Активность AF-1 зависит от фосфорилирования Ser118, и примером перекрестных взаимодействий между ER и опосредованной фактором роста передачей сигнала является фосфорилирование Ser 118 с помощью MAPK в ответ на факторы роста, такие как IGF-1 и EGF (Kato, et al., *Science*. 1995. 270:1491-1494).

Показано, что с ER связывается большое число структурно различающихся соединений. Некоторые соединения, такие как эндогенный лиганд E2, действуют как агонисты рецептора, при этом другие конкурентно ингибируют связывание E2 и действуют в качестве антагонистов рецептора. Такие соединения можно поделить на 2 класса в зависимости от их функциональных эффектов. Селективные модуляторы рецептора эстрогена (SERM), такие как тамоксифен, характеризуются способностью действовать в каче-

стве как агонистов, так и антагонистов рецептора, в зависимости от окружения клетки и промотора, а также от целевой изоформы ER. Например, тамоксифен действует как антагонист в ткани молочной железы, однако действует как частичный агонист в костной ткани, сердечно-сосудистой системе и матке. Все SERM, по-видимому, действуют как антагонисты AF2 и получают свои свойства частичных агонистов через AF1. Члены второй группы, примером которой является фульвестрант, классифицируются как полные антагонисты и способны блокировать активность эстрогена путем полного ингибирования доменов AF1 и AF2 посредством индукции уникального изменения конформации лигандсвязывающего домена (LBD) при связывании с соединением, которое приводит к полному устранению взаимодействия между спиралью 12 и остальной частью LBD, блокируя рекрутинг кофактора (Wakeling, et al., *Cancer Res.* 1991, 51:3867-3873; Pike, et al., *Structure*, 2001, 9:145-153).

В присутствии E2 внутриклеточные уровни содержания ER α снижаются посредством убиквитин-протеасомного (Ub/26S) пути. Полиубиквитинилирование ER α с присоединенным лигандом катализируется по меньшей мере тремя ферментами; убиквитин, активированный убиквитин-активирующим ферментом E1, конъюгируется посредством E2 с остатками лизина с помощью изопептидной связи посредством E3, представляющего собой убиквитинлигазу, и полиубиквитинилированный ER α затем направляется в протеасому для расщепления. Хотя регуляция ER-зависимой транскрипции и опосредованное протеасомой расщепление ER связаны (Lonard, et al., *Mol. Cell*, 2000, 5:939-948), сама по себе транскрипция не нужна для расщепления ER α , а сборки комплекса инициации транскрипции достаточно для того, чтобы сделать ER α мишенью для расщепления ядерными протеасомами. Считается, что данный процесс расщепления, индуцируемый E2, необходим для обеспечения его способности быстро активировать транскрипцию в ответ на необходимость в клеточной пролиферации, дифференциации и метаболизме (Stenoien, et al., *Mol. Cell Biol.* 2001, 21:4404-4412). Фульвестрант также относят к селективным супрессорам рецепторов эстрогена (SERD), подклассу антагонистов, которые могут также индуцировать быструю супрессию ER α по пути протеасомы 26 S. Напротив, SERM, такой как тамоксифен, может повышать уровни содержания ER α , хотя эффект в отношении транскрипции является подобным тому, который наблюдают в случае SERD.

Примерно 70% видов рака молочной железы характеризуются экспрессией ER и/или рецепторов прогестерона, свидетельствуя о зависимости роста таких опухолевых клеток от гормонов. Считается, что в случае других видов рака, таких как рак яичников и рак эндометрия, рост также зависит от опосредованной ER α передачи сигнала. В случае таких пациентов виды терапии могут подавлять опосредованную ER передачу сигнала либо путем антагонизирования связывания лиганда с ER, например тамоксифен, который применяют для лечения ранней и прогрессирующей стадий ER-положительного рака молочной железы, как при пред-, так и при постменопаузной схеме лечения; либо путем антагонизирования и супрессирования ER α , например фульвестрант, который применяют для лечения у женщин рака молочной железы, который прогрессировал, несмотря на терапию тамоксифеном или ингибиторами ароматазы; либо путем блокирования синтеза эстрогена, например ингибиторы ароматазы, которые применяют для лечения ранних и прогрессирующих стадий ER-положительного рака молочной железы. Хотя эти методы лечения оказали чрезвычайно положительное влияние на лечение рака молочной железы, значительное число пациентов, у которых опухоли характеризуются экспрессией ER, демонстрируют устойчивость к существующим методам лечения на основе ER *de novo* или вырабатывают устойчивость к этим методам лечения со временем. Для объяснения возникновения устойчивости к тамоксифену при первичном лечении описано несколько различных механизмов, которые главным образом предусматривают переключение тамоксифена с действия в качестве антагониста на действие в качестве агониста либо за счет более низкой аффинности некоторых кофакторов, связывающихся с комплексом тамоксифен-ER α , которая смещается вследствие сверхэкспрессии этих кофакторов, либо за счет образования вторичных сайтов, которые способствуют взаимодействию комплекса тамоксифен-ER α с кофакторами, которые в норме не связываются с комплексом. Следовательно, устойчивость может возникать в результате разрастания клеток, экспрессирующих конкретные кофакторы, которые стимулируют активность комплекса тамоксифен-ER α . Также существует возможность того, что другие пути опосредованной фактором роста передачи сигнала непосредственно активируют рецептор или коактиваторы ER со стимуляцией клеточной пролиферации независимо от опосредованной лигандом передачи сигнала.

Совсем недавно мутации в ESR1 были идентифицированы в качестве возможного механизма устойчивости в образцах опухолей, полученных от пациентов с метастатическим ER-положительным раком, и в моделях ксенотрансплантатов, полученных от пациентов (PDX), со значениями частоты, варьирующими в диапазоне 17-25%. Такие мутации преимущественно, но не исключительно, находятся в лигандсвязывающем домене, приводя к возникновению мутантных функциональных белков; примеры аминокислотных замен включают Ser463Pro, Val543Glu, Leu536Arg, Tyr537Ser, Tyr537Asn и Asp538Gly, при этом замены по аминокислотам 537 и 538 составляют большинство замен, описанных в настоящее время. Такие мутации ранее не обнаруживали в геномах из образцов первичного рака молочной железы, описанных в базе данных Cancer Genome Atlas (Атлас ракового генома). Из 390 образцов первичного рака молочной железы, положительных в отношении экспрессии ER, ни одной мутации не было обнаружено в

ESR1 (Cancer Genome Atlas Network, 2012, Nature, 490:61-70). Считается, что мутации лигандсвязывающего домена возникли в качестве ответа, представляющего собой устойчивость в отношении препаратов эндокринной терапии, представляющих собой ингибитор ароматазы, поскольку в отсутствие эстрадиола такие мутантные рецепторы демонстрируют базальную транскрипционную активность. Кристаллическая структура ER с мутацией по аминокислотам 537 и 538 демонстрирует, что обе мутации способствовали конформации ER, соответствующей связыванию с агонистом, путем сдвига положения спирали 12 таким образом, чтобы обеспечить рекрутинг коактиватора, и с имитацией, таким образом, дикого типа ER, активированного агонистом. В опубликованных данных продемонстрировано, что препараты эндокринной терапии, такие как тамоксифен и фульвестрант, все же могут связываться с мутантным ER и до некоторой степени ингибировать активацию транскрипции, и что фульвестрант способен обеспечивать расщепление рецептора с Try537Ser, однако для полного подавления функции рецептора могут потребоваться более высокие дозы (Toy et al., Nat. Genetics, 2013. 45:1439-1445; Robinson et al., Nat. Genetics, 2013. 45:1446-1451; Li, S. et al. Cell Rep. 4, 1116-1130 (2013)). Следовательно, возможно, что некоторые соединения формулы (ID) или их фармацевтически приемлемые соли (описанные в настоящем документе далее) будут способны к супрессированию и антагонизированию мутантного ER, хотя на этой стадии неизвестно, связаны ли мутации ESR1 с измененным клиническим исходом.

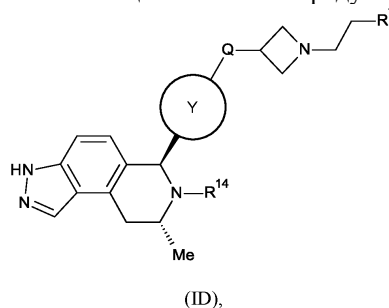
Независимо от того, какой механизм устойчивости или комбинация механизмов имеет место, многие из них все же характеризуются зависимостью от активности, обусловленной ER, и удаление рецептора посредством механизма на основе SERD представляет собой наилучший способ удаления рецептора ER α из клетки. Фульвестрант в настоящее время является единственным SERD, одобренным для клинического применения, однако, несмотря на его свойства в отношении механизма реакции, фармакологические свойства лекарственного средства ограничивают его эффективность ввиду существующего на данный момент ограничения дозы, составляющего 500 мг в месяц, в результате чего обновление рецептора составляет менее 50% в образцах, полученных от пациента, по сравнению с полной супрессией рецептора, наблюдаемой в экспериментах с линией клеток молочной железы *in vitro* (Wardell, et al., Biochem. Pharm. 2011, 82:122-130).

Следовательно, существует необходимость в новых средствах, мишенью которых является ER, которые характеризуются необходимыми фармацевтическими свойствами и механизмом действия SERD, для обеспечения повышенного терапевтического эффекта при схеме лечения раннего, метастатического рака и приобретенной устойчивости.

Показано, что соединения в соответствии с настоящим описанием обладают сильной противоопухолевой активностью, являясь применимыми в подавлении неконтролируемой клеточной пролиферации, которая возникает при злокачественном заболевании. Соединения в соответствии с настоящим описанием обеспечивают противоопухолевый эффект, действуя, как минимум, в качестве SERD. Например, соединения в соответствии с настоящим описанием могут демонстрировать противоопухолевую активность благодаря способности подавлять функцию рецептора эстрогена в ряде различных клеточных линий рака молочной железы, например в клеточных линиях рака молочной железы MCF-7, CAMA-1, BT474 и/или MDA-MB-134. Можно ожидать, что такие соединения будут более подходящими в качестве терапевтических средств, в частности, для лечения рака.

Соединения в соответствии с настоящим описанием могут также демонстрировать преимущественные физические свойства (например, более низкую липофильность, более высокую растворимость в воде, более высокую проницаемость, более низкий уровень связывания с белками плазмы крови и/или большую химическую устойчивость), и/или благоприятные профили токсичности (например, пониженную активность в отношении hERG), и/или благоприятные метаболические или фармакокинетические профили по сравнению с другими известными SERD. Следовательно, такие соединения могут быть особенно подходящими в качестве терапевтических средств, в частности, для лечения рака.

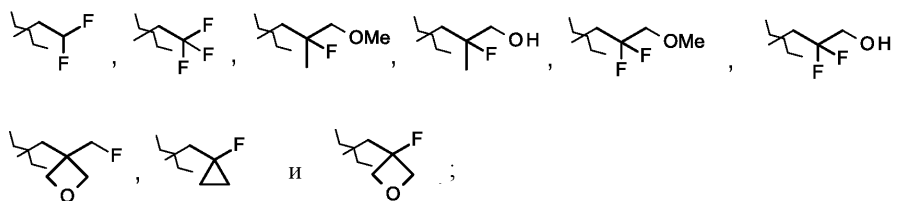
В соответствии с одним аспектом настоящего описания предусмотрено соединение формулы (ID)



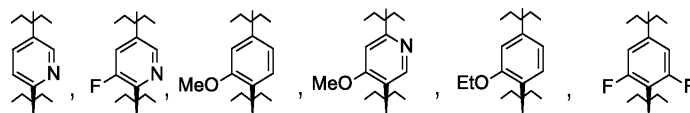
где Q представляет собой O или NH;

R¹ представляет собой CH₂F или CHF₂;

R¹⁴ выбран из группы, состоящей из:



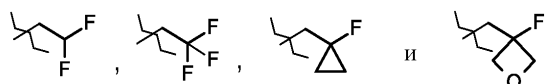
кольцо Y выбрано из группы, состоящей из:



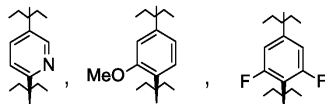
или его фармацевтически приемлемая соль.

Предпочтительно, когда R¹ представляет собой CH₂F.

Предпочтительно, когда R¹⁴ выбран из группы, состоящей из:



Предпочтительно, когда кольцо Y выбрано из группы, состоящей из:



Предпочтительное соединение по изобретению выбрано из группы, состоящей из:

N-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;

6-((6S,8R)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин;

6-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин;

N-(4-((6S,8R)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;

3-((6S,8R)-6-(2,6-дифтор-4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)фенил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)-2,2-дифторпропан-1-ол;

N-(4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;

(6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-6-(4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)-2-метоксифенил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина;

N-(3,5-дифтор-4-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;

5-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-4-метоксипиридин-2-амин;

N-(4-((6S,8R)-7-((3-(фторметил)оксетан-3-ил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;

N-(3,5-дифтор-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;

(6S,8R)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-6-(4-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-илокси)-2-метоксифенил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина;

2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)пиридин-2-ил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)пропан-1-ол;

N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин;

5-фтор-6-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин;

N-(3-этокси-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;

N-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;

(6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-6-(4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)-2-метоксифенил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина;

3-((6S,8R)-6-(2,6-дифтор-4-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-иламино)фенил)-8-метил-8,9-дигидро-3H-

пиразоло[4,3-f]изохинолин-7(6H)-ил)-2-фтор-2-метилпропан-1-ола;

6-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин;

(6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-6-(5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)пиридин-2-ил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина;

1-(3-фторпропил)-N-(3-метокси-4-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)азетидин-3-амин;

5-фтор-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин;

2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(3-фтор-5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)пиридин-2-ил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)пропан-1-ола;

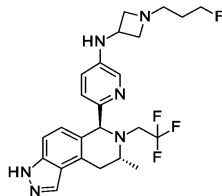
6-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-5-фтор-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин;

2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)пиридин-2-ил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)пропан-1-ола;

2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(3-фтор-5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)пиридин-2-ил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)пропан-1-ола и

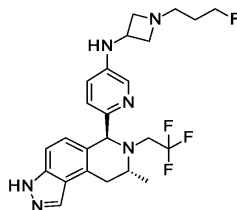
2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)-2-метоксифенил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)пропан-1-ола.

Предпочтительно, когда соединение по изобретению представляет собой N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин:



или его фармацевтически приемлемую соль.

В частности, предпочтительно, когда соединение по изобретению представляет собой N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин:



В соответствии с другим аспектом настоящего описания предусмотрено применение соединения, представляющего собой N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин, или его фармацевтически приемлемой соли для предупреждения или лечения рака у теплокровного животного. Предпочтительно предусмотрено применение указанного выше соединения или его фармацевтически приемлемой соли для предупреждения или лечения рака молочной железы или гинекологического рака.

В настоящем документе также описаны фармацевтические композиции, которые содержат соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль в сочетании с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом.

В настоящем документе также описано соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль для применения в качестве лекарственного препарата.

В настоящем документе также описаны комбинации соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли с другим противоопухолевым средством для применения в лечении рака.

Дополнительные аспекты настоящего описания будут очевидны для специалиста в данной области техники после прочтения данного описания.

В одном варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (ID), определенное выше.

В одном варианте осуществления предусмотрена фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (ID).

В одном варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (ID)

или его фармацевтически приемлемая соль, где Q представляет собой NH.

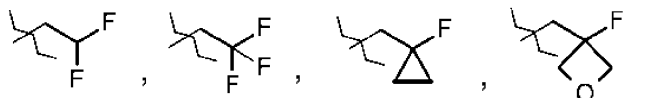
В одном варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль, где Q представляет собой O.

В одном варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль, где R^1 представляет собой CH_2F .

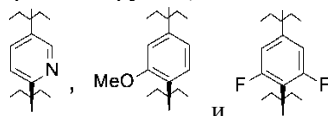
В одном варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль, где Q представляет собой O и R^1 представляет собой CH_2F .

В одном варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль, где Q представляет собой NH и R^1 представляет собой CH_2F .

В одном варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль, где R^{14} выбран из группы, состоящей из:



В одном варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль, где кольцо Y выбрано из группы, состоящей из:



В одном варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (ID), где соединение выбрано из группы, состоящей из:

N-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]-изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;

6-((6S,8R)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]-изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин;

6-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]-изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин;

N-(4-((6S,8R)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]-изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;

3-((6S,8R)-6-(2,6-дифтор-4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)фенил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)-2,2-дифторпропан-1-ол;

N-(4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]-изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;

(6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-6-(4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)-2-метоксифенил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина;

N-(3,5-дифтор-4-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин и

5-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-4-метоксипиридин-2-амин;

или его фармацевтически приемлемая соль.

В одном варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (ID), где соединение выбрано из группы, состоящей из:

N-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]-изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;

6-((6S,8R)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]-изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин;

6-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]-изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин;

N-(4-((6S,8R)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]-изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;

3-((6S,8R)-6-(2,6-дифтор-4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)фенил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)-2,2-дифторпропан-1-ол;

N-(4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]-изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;

(6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-6-(4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)-2-метоксифенил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина;

N-(3,5-дифтор-4-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]-изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;

5-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]-изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-4-метоксипиридин-2-амин;

N-(4-((6S,8R)-7-((3-фторметил)оксетан-3-ил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]-изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;

N-(3,5-дифтор-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;
 (6S,8R)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-6-(4-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-илокси)-2-метоксифенил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолина;
 2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)пиридин-2-ил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)пропан-1-ола;
 N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин;
 5-фтор-6-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин;
 N-(3-этокси-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;
 N-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;
 (6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-6-(4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)-2-метоксифенил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолина;
 3-((6S,8R)-6-(2,6-дифтор-4-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-иламино)фенил)-8-метил-8,9-дигидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7(6Н)-ил)-2-фтор-2-метилпропан-1-ола;
 6-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин и
 (6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-6-(5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)пиридин-2-ил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолина;
 или его фармацевтически приемлемая соль.

В одном варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (ID), где соединение выбрано из группы, состоящей из:

1-(3-фторпропил)-N-(3-метокси-4-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)азетидин-3-амин;
 5-фтор-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин;
 2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(3-фтор-5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)пиридин-2-ил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)пропан-1-ола;
 6-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-5-фтор-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин;
 2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)пиридин-2-ил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)пропан-1-ола;
 2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(3-фтор-5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)пиридин-2-ил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)пропан-1-ола;
 2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)-2-метоксифенил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)пропан-1-ола;
 или его фармацевтически приемлемая соль.

В одном варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (ID), которое представляет собой N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-(8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин, или его фармацевтически приемлемая соль.

В одном варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (ID), которое представляет собой N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин, или его фармацевтически приемлемая соль.

В одном варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (ID), которое представляет собой N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6R,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин, или его фармацевтически приемлемая соль.

В одном варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из примеров в настоящем описании. Дополнительным признаком является любой из вариантов осуществления, описанных в настоящем документе, при условии, что любые из конкретных примеров исключены по отдельности. Дополнительным признаком является любой из вариантов осуществления, описанных в настоящем документе, при условии, что любые одно или несколько соединений, выбранных из представленного выше списка примеров соединений в соответствии с настоящим описанием, исключены по отдельности.

Дополнительно во избежание неоднозначности толкования применение "∧" в формулах в настоящем описании обозначает точку присоединения между различными группами.

Соединения формулы (ID) имеют два или более хиральных центра, и будет понятно, что такое соединение формулы (ID) можно получать, выделять и/или поставлять в присутствии, или в отсутствие, или в дополнение к нему одного или нескольких из других возможных энантиомерных и/или диастереомерных изомеров соединения формулы (ID) в любых относительных долях. Получение энантиомерно

обогащенных/энантиомерно чистых и/или диастереомерно обогащенных/диастереомерно чистых соединений можно проводить с помощью стандартных методик органической химии, хорошо известных из уровня техники, например, путем синтеза из энантиомерно обогащенных или энантиомерно чистых исходных материалов, применения соответствующего энантиомерно обогащенного или энантиомерно чистого катализатора в ходе синтеза и/или путем разделения рацемической или частично обогащенной смеси стереоизомеров, например, посредством хиральной хроматографии.

Для применения в области фармацевтики может быть предпочтительным получение соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли без присутствия других стереоизомерных форм в больших количествах.

Соответственно, в одном варианте осуществления предусмотрена композиция, содержащая соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль, необязательно вместе с одной или несколькими другими стереоизомерными формами соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, где соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль присутствует в композиции в диастереомерном избытке (% de), составляющем $\geq 90\%$.

В дополнительном варианте осуществления % de в вышеупомянутой композиции составляет $\geq 95\%$.

В дополнительном варианте осуществления % de в вышеупомянутой композиции составляет $\geq 98\%$.

В дополнительном варианте осуществления % de в вышеупомянутой композиции составляет $\geq 99\%$.

В дополнительном варианте осуществления предусмотрена композиция, содержащая соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль, необязательно вместе с одной или несколькими другими стереоизомерными формами соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, где соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль присутствует в композиции в энантиомерном избытке (% ee), составляющем $\geq 90\%$.

В дополнительном варианте осуществления % ee в вышеупомянутой композиции составляет $\geq 95\%$.

В дополнительном варианте осуществления % ee в вышеупомянутой композиции составляет $\geq 98\%$.

В дополнительном варианте осуществления % ee в вышеупомянутой композиции составляет $\geq 99\%$.

В дополнительном варианте осуществления предусмотрена композиция, содержащая соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль, необязательно вместе с одной или несколькими другими стереоизомерными формами соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, где соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль присутствует в композиции в энантиомерном избытке (% ee), составляющем $\geq 90\%$, и диастереомерном избытке (% de), составляющем $\geq 90\%$.

В дополнительных вариантах осуществления вышеупомянутой композиции % ee и % de могут иметь любую комбинацию значений, перечисленных ниже.

% ee составляет $\leq 5\%$, и % de составляет $\geq 80\%$.

% ee составляет $\leq 5\%$, и % de составляет $\geq 90\%$.

% ee составляет $\leq 5\%$, и % de составляет $\geq 95\%$.

% ee составляет $\leq 5\%$, и % de составляет $\geq 98\%$.

% ee составляет $\geq 95\%$, и % de составляет $\geq 95\%$.

% ee составляет $\geq 98\%$, и % de составляет $\geq 98\%$.

% ee составляет $\geq 99\%$, и % de составляет $\geq 99\%$.

В дополнительном варианте осуществления предусмотрена фармацевтическая композиция, которая содержит соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль в сочетании с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом.

В одном варианте осуществления предусмотрена фармацевтическая композиция, которая содержит соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль в сочетании с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом, необязательно дополнительно содержащая одну или несколько других стереоизомерных форм соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, где соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль присутствуют в композиции в энантиомерном избытке (% ee), составляющем $\geq 90\%$.

В дополнительном варианте осуществления % ee в вышеупомянутой композиции составляет $\geq 95\%$.

В дополнительном варианте осуществления % ee в вышеупомянутой композиции составляет $\geq 98\%$.

В дополнительном варианте осуществления % ee в вышеупомянутой композиции составляет $\geq 99\%$.

В одном варианте осуществления предусмотрена фармацевтическая композиция, которая содержит соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль в сочетании с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом, необязательно дополнительно содержащая одну или несколько других стереоизомерных форм соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, где соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль присутствуют в композиции в диастереомерном избытке (% de), составляющем $\geq 90\%$.

В дополнительном варианте осуществления % de в вышеупомянутой композиции составляет $\geq 95\%$.

В дополнительном варианте осуществления % de в вышеупомянутой композиции составляет $\geq 98\%$.

В дополнительном варианте осуществления % de в вышеупомянутой композиции составляет $\geq 99\%$.

В одном варианте осуществления предусмотрена фармацевтическая композиция, которая содержит соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль в сочетании с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом, необязательно дополнительно содержащая одну или несколько других стереоизомерных форм соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, где соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль присутствуют в композиции в энантиомерном избытке (% ee), составляющем $\geq 0\%$, и в диастереомерном избытке (% de), составляющем $\geq 90\%$.

В дополнительных вариантах осуществления вышеупомянутой фармацевтической композиции % ee и % de могут иметь любую комбинацию значений, перечисленных ниже.

% ee составляет $\geq 95\%$, и % de составляет $\geq 95\%$.

% ee составляет $\geq 98\%$, и % de составляет $\geq 98\%$.

% ee составляет $\geq 99\%$, и % de составляет $\geq 99\%$.

Соединения формулы (ID) и их фармацевтически приемлемые соли можно получать, применять или поставлять в аморфной форме, кристаллической форме или полукристаллической форме, и любое указанное соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль могут быть способны образовывать более чем одну кристаллическую/полиморфную форму, в том числе гидратированные формы (например, полугидрат, моногидрат, дигидрат, тригидрат или гидрат другого стехиометрического состава) и/или сольватированные формы. Следует понимать, что настоящее описание охватывает все без исключения такие твердые формы соединения формулы (ID) и его фармацевтически приемлемых солей.

В дополнительных вариантах осуществления предусмотрено соединение формулы (ID), получаемое с помощью способов, описанных далее в данном документе в разделе "Примеры".

Подразумевается, что настоящее изобретение включает все изотопы атомов, встречающихся в соединениях по настоящему изобретению. Следует понимать, что изотопы предусматривают такие атомы, которые имеют одинаковое атомное число, но разные массовые числа. Например, изотопы водорода предусматривают тритий и дейтерий. Изотопы углерода предусматривают ^{13}C и ^{14}C . Изотопы азота предусматривают ^{15}N .

Подходящей фармацевтически приемлемой солью соединения формулы (ID) является, например, соль присоединения кислоты. Подходящей фармацевтически приемлемой солью соединения формулы (ID) может быть, например, соль присоединения кислоты соединения формулы (ID), например соль присоединения кислоты, образуемая с помощью неорганической или органической кислоты, такой как уксусная кислота, адипиновая кислота, бензолсульфоновая кислота, бензойная кислота, коричная кислота, лимонная кислота, D,L-молочная кислота, этандисульфоновая кислота, этансульфоновая кислота, фумаровая кислота, хлористоводородная кислота, L-винная кислота, малеиновая кислота, яблочная кислота, малоновая кислота, метансульфоновая кислота, нападизиловая кислота, фосфорная кислота, сахарин, янтарная кислота, серная кислота, п-толуолсульфоновая кислота, толуолсульфоновая кислота или трифторуксусная кислота.

Дополнительной подходящей фармацевтически приемлемой солью соединения формулы (ID) является, например, соль, образуемая в организме человека или животного после введения соединения формулы (ID) в указанный организм человека или животного.

Соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль можно получать в виде сокристаллической твердой формы. Следует понимать, что фармацевтически приемлемый сокристалл соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемых солей составляет аспект настоящего описания.

Конкретные твердые формы, описанные в данном документе, имеют, по сути, такие же порошковые рентгенограммы, как и порошковые рентгенограммы, показанные на фигурах, и характеризуются различными значениями угла 2-тета, показанными в таблицах, включенных в данный документ. Будет понятно, что значения угла 2-тета порошковой рентгенограммы могут слегка меняться от одного устройства к другому или от одного образца к другому, и поэтому приведенные значения не следует рассматривать как абсолютные.

Известно, что можно получать порошковую рентгенограмму, которая имеет одну или несколько погрешностей измерения в зависимости от условий измерения (таких как применяемое оборудование или устройство). В частности, общеизвестно, что значения интенсивности на порошковой рентгенограмме могут колебаться в зависимости от условий измерения. Следовательно, следует понимать, что твердые формы в соответствии с настоящим описанием не ограничены кристаллами, которые имеют порошковые рентгенограммы, которые являются идентичными порошковым рентгенограммам, показанным на фигурах, и любые кристаллы, имеющие порошковые рентгенограммы, по сути, такие же, как показано на фигурах, находятся в пределах объема настоящего описания. Специалист в области порошковой рентгеновской дифракции способен сделать вывод о значительной степени идентичности порошковых рентгенограмм.

Специалистам в области порошковой рентгеновской дифракции будет понятно, что на относительную интенсивность пиков могут влиять, например, зерна с размером более 30 мкм и разбросом значений

соотношений сторон, которые могут влиять на анализ образцов. Специалисту в данной области также будет понятно, что на положение отражений могут влиять точная высота, на которой находится образец в дифрактометре, и калибровка нуля дифрактометра. Плоскостность поверхности образца также может оказывать незначительный эффект. Следовательно, представленные данные дифрактограмм не следует принимать как абсолютные значения. (Jenkins, R. & Snyder, R.L. "Introduction to X-Ray Powder Diffractometry", John Wiley & Sons 1996; Bunn, C.W. (1948), Chemical Crystallography, Clarendon Press, London; Klug, H.P. & Alexander, L.E. (1974), X-Ray Diffraction Procedures).

Как правило, погрешность измерения угла дифракции на порошковой рентгенограмме составляет примерно $\pm 0,2^\circ$ угла 2-тета, и такую степень погрешности измерения следует учитывать при рассмотрении порошковых рентгенограмм на фигурах при интерпретации данных, содержащихся в таблицах, включенных в данный документ. Кроме того, следует понимать, что значения интенсивности могут колебаться в зависимости от условий эксперимента и способа получения образца (предпочтительной ориентации).

В данном описании изначально было установлено, что соединение N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин (далее в данном документе соединение X) находится в форме аморфного твердого вещества. Применимые кристаллические полиморфные формы соединения впоследствии получали с применением условий, описанных в разделе экспериментов.

Следовательно, в дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрена полиморфная форма А соединения X. Данную полиморфную форму можно охарактеризовать тем, что она обеспечивает по меньшей мере одно из следующих значений угла 2θ , измеренных с применением излучения $\text{CuK}\alpha$: 15,5, 18,6 и $24,6^\circ$.

Полиморфная форма А соединения X характеризуется тем, что обеспечивает порошковую рентгенограмму, по сути, такую, показанную на фиг. 1.

Десять пиков порошковой рентгеновской дифракции для данной полиморфной формы [угол 2-тета (2θ), интенсивность (%)] являются следующими: 21,1 (100%), 20,8 (54,3%), 14,6 (41,9%), 18,6 (41,6%), 12,3 (38,9%), 15,5 (34,1%), 24,6 (31,3%), 15,8 (30,6%), 13,4 (23,2%) и $19,0^\circ$ (21,7%).

В соответствии с настоящим описанием предусмотрена полиморфная форма А соединения X, которая характеризуется порошковой рентгенограммой по меньшей мере с одним характерным пиком приблизительно при значении угла 2-тета, равном $15,5^\circ$.

В соответствии с настоящим описанием предусмотрена полиморфная форма А соединения X, которая характеризуется порошковой рентгенограммой по меньшей мере с одним характерным пиком приблизительно при значении угла 2-тета, равном $18,6^\circ$.

В соответствии с настоящим описанием предусмотрена полиморфная форма А соединения X, которая характеризуется порошковой рентгенограммой по меньшей мере с одним характерным пиком приблизительно при значении угла 2-тета, равном $24,6^\circ$.

В соответствии с настоящим описанием предусмотрена полиморфная форма А соединения X, которая характеризуется порошковой рентгенограммой по меньшей мере с двумя характерными пиками приблизительно при значениях угла 2-тета, равных $15,5$ и $18,6^\circ$.

В соответствии с настоящим описанием предусмотрена полиморфная форма А соединения X, которая характеризуется порошковой рентгенограммой с характерными пиками приблизительно при значениях угла 2-тета, равных 21,1, 20,8, 14,6, 18,6, 12,3, 15,5, 24,6, 15,8, 13,4 и $19,0^\circ$.

В соответствии с настоящим описанием предусмотрена полиморфная форма А соединения X, которая характеризуется порошковой рентгенограммой, являющейся, по сути, такой же, как порошковая рентгенограмма, показанная на фиг. 1.

В соответствии с настоящим описанием предусмотрена полиморфная форма А соединения X, которая характеризуется порошковой рентгенограммой по меньшей мере с одним характерным пиком при значении угла 2-тета, равном $15,5 \pm 0,2^\circ$ угла 2-тета.

В соответствии с настоящим описанием предусмотрена полиморфная форма А соединения X, которая характеризуется порошковой рентгенограммой по меньшей мере с одним характерным пиком при значении угла 2-тета, равном $18,6 \pm 0,2^\circ$ угла 2-тета.

В соответствии с настоящим описанием предусмотрена полиморфная форма А соединения X, которая характеризуется порошковой рентгенограммой по меньшей мере с двумя характерными пиками при значениях угла 2-тета, равных $15,5$ и $18,6^\circ$, где указанные значения могут отклоняться на $\pm 0,2^\circ$ угла 2-тета.

В соответствии с настоящим описанием предусмотрена полиморфная форма А соединения X, которая характеризуется порошковой рентгенограммой со специфическими пиками при значениях угла 2-тета, равных 21,1, 20,8, 14,6, 18,6, 12,3, 15,5, 24,6, 15,8, 13,4 и $19,0^\circ$, где указанные значения могут отклоняться на $\pm 0,2^\circ$ угла 2-тета.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрена полиморфная форма Е соединения X. Данную полиморфную форму можно охарактеризовать тем, что она обеспечивает по меньшей мере

одно из следующих значений угла 2θ , измеренных с применением излучения $\text{CuK}\alpha$: 14,8, 16,2 и 17,9°.

Полиморфная форма E соединения X характеризуется тем, что обеспечивает порошковую рентгенограмму, по сути, такую, как показано на фиг. 8.

Десять пиков порошковой рентгеновской дифракции для данной полиморфной формы [угол 2-тета (2θ), интенсивность (%)] являются следующими: 17,9° (100%), 14,8° (67,1%), 20,9° (60,1%), 23,1° (55,4%), 16,2° (49,3%), 20,0° (35,6%), 18,2° (32,9%), 12,3° (30,4%), 22,2° (19,0%) и 13,9° (18,9%).

В соответствии с настоящим описанием предусмотрена полиморфная форма E соединения X, которая характеризуется порошковой рентгенограммой по меньшей мере с одним характерным пиком приблизительно при значении угла 2-тета, равном 17,9°.

В соответствии с настоящим описанием предусмотрена полиморфная форма E соединения X, которая характеризуется порошковой рентгенограммой по меньшей мере с одним характерным пиком приблизительно при значении угла 2-тета, равном 14,8°.

В соответствии с настоящим описанием предусмотрена полиморфная форма E соединения X, которая характеризуется порошковой рентгенограммой по меньшей мере с одним характерным пиком приблизительно при значении угла 2-тета, равном 17,9°.

В соответствии с настоящим описанием предусмотрена полиморфная форма E соединения X, которая характеризуется порошковой рентгенограммой по меньшей мере с двумя характерными пиками приблизительно при значениях угла 2-тета, равных 17,9 и 14,8°.

В соответствии с настоящим описанием предусмотрена полиморфная форма E соединения X, которая характеризуется порошковой рентгенограммой с характерными пиками приблизительно при значениях угла 2-тета, равных 17,9, 14,8, 20,9, 23,1, 16,2, 20,0, 18,2, 12,3, 22,2 и 13,9°.

В соответствии с настоящим описанием предусмотрена полиморфная форма E соединения X, которая характеризуется порошковой рентгенограммой, являющейся, по сути, такой же, как порошковая рентгенограмма, показанная на фиг. 8.

В соответствии с настоящим описанием предусмотрена полиморфная форма E соединения X, которая характеризуется порошковой рентгенограммой по меньшей мере с одним характерным пиком при значении угла 2-тета, равном $17,9 \pm 0,2^\circ$ угла 2-тета.

В соответствии с настоящим описанием предусмотрена полиморфная форма E соединения X, которая характеризуется порошковой рентгенограммой по меньшей мере с одним характерным пиком при значении угла 2-тета, равном $14,8 \pm 0,2^\circ$ угла 2-тета.

В соответствии с настоящим описанием предусмотрена полиморфная форма E соединения X, которая характеризуется порошковой рентгенограммой по меньшей мере с двумя характерными пиками при значениях угла 2-тета, равных 17,9 и 14,8°, где указанные значения могут отклоняться на $\pm 0,2^\circ$ угла 2-тета.

В соответствии с настоящим описанием предусмотрена полиморфная форма E соединения X, которая характеризуется порошковой рентгенограммой с характерными пиками при значениях угла 2-тета, равных 17,9, 14,8, 20,9, 23,1, 16,2, 20,0, 18,2, 12,3, 22,2 и 13,9°, где указанные значения могут отклоняться на $\pm 0,2^\circ$ угла 2-тета.

Следует понимать, что подходящее фармацевтически приемлемое пролекарство соединения формулы (ID) также составляет аспект настоящего изобретения. Соответственно, соединения в соответствии с настоящим описанием можно вводить в форме пролекарства, которое представляет собой соединение, которое в организме человека или животного расщепляется с высвобождением соединения в соответствии с настоящим описанием. Пролекарство можно применять для изменения физических свойств и/или фармакокинетических свойств соединения в соответствии с настоящим описанием. Пролекарство может быть образовано, если соединение в соответствии с настоящим описанием содержит подходящую группу или заместитель, к которым можно присоединить группу, модифицирующую свойство. Примеры пролекарств включают расщепляемые *in vivo* сложнэфирные или амидные производные соединения формулы (ID).

Соответственно, один аспект настоящего описания включает такие соединения формулы (ID), которые определены выше в данном документе, если они образуются в результате органического синтеза и если они образуются в организме человека или животного в результате расщепления пролекарства соединения формулы (ID). Соответственно, настоящее описание включает такие соединения формулы (ID), которые получают с помощью способов органического синтеза, а также такие соединения, которые образуются в организме человека или животного посредством метаболизма соединения-предшественника, таким образом, соединение формулы (ID) может представлять собой соединение, получаемое посредством синтеза, и соединение, получаемое посредством метаболизма.

Подходящее фармацевтически приемлемое пролекарство соединения формулы (ID) представляет собой такое соединение, которое, согласно обоснованному медицинскому заключению, является пригодным для введения в организм человека или животного без нежелательных видов фармакологической активности и без чрезмерной токсичности.

Разные формы пролекарства описаны, например, в следующих документах:

- a) *Methods in Enzymology*, Vol. 42, p. 309-396, edited by K. Widder, *et al.* (Academic Press, 1985);
- b) *Design of Pro-drugs*, edited by H. Bundgaard, (Elsevier, 1985);
- c) *A Textbook of Drug Design and Development*, edited by Krogsgaard-Larsen and H. Bundgaard, Chapter 5 "Design and Application of Pro-drugs", by H. Bundgaard p. 113-191 (1991);
- d) H. Bundgaard, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 8, 1-38 (1992);
- e) H. Bundgaard, *et al.*, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 77, 285 (1988);
- f) N. Kakeya, *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.*, 32, 692 (1984);
- g) T. Higuchi and V. Stella, "Pro-Drugs as Novel Delivery Systems", A.C.S. Symposium Series, Volume 14 и
- h) E. Roche (editor), "Bioreversible Carriers in Drug Design", Pergamon Press, 1987.

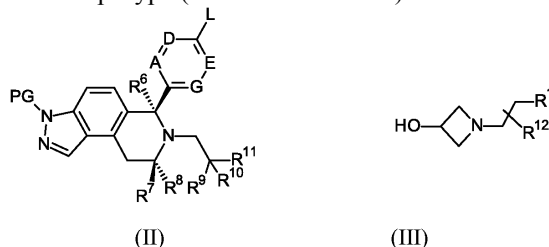
Эффекты соединения формулы (ID) *in vivo* могут частично проявляться благодаря одному или нескольким метаболитам, которые образуются в организме человека или животного после введения соединения формулы (ID). Как указано выше в данном документе, эффекты соединения формулы (ID) *in vivo* также могут проявляться посредством метаболизма соединения-предшественника (пролекарства).

Во избежание неоднозначности следует понимать, что если в настоящем описании группа обозначена как "определенная выше в данном документе" или "определенная в данном документе", то указанная группа включает первое встречающееся и наиболее широкое определение, а также все без исключения альтернативные определения для данной группы.

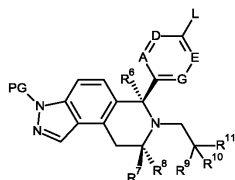
Другой аспект настоящего описания предусматривает способ получения соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли. Подходящий способ проиллюстрирован нижеследующими вариантами иллюстративного способа. Необходимые исходные материалы можно получать с помощью стандартных процедур органической химии. Получение таких исходных материалов описано во взаимосвязи со следующими иллюстративными вариантами способа и в рамках прилагаемых примеров. Альтернативно, необходимые исходные материалы можно получать с помощью процедур, аналогичных проиллюстрированным, которые находятся в рамках обычной квалификации специалиста в области органической химии.

Соединения формулы (ID) можно получать, например, посредством:

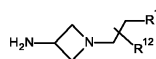
- a) этерификации подходящего арильного или гетероарильного соединения формулы (II), где L представляет собой, например, галоген (такой как йод), или трифторметансульфонильную (трифлатную) группу, или бороновую кислоту, или сложный эфир, с помощью спирта формулы (III) с применением подходящего металлического катализатора (например, прекатализатор 3-го поколения RockPhos) в подходящем растворителе (таком как толуол или DME) в присутствии подходящего основания (такого как карбонат цезия) и при подходящей температуре (такой как 90-120°C); удаления защитной группы (PG) в формуле (II), такой как THP, с применением кислотных условий (таких как безводный HCl в 1,4-диоксане) при подходящей температуре (такой как 10-30°C):



- b) аминирования подходящего арильного или гетероарильного соединения формулы (II), где L, например, представляет собой галоген (такой как йод) или трифторметилсульфонилоксильную (трифлатную) группу, с помощью амина формулы (IV) с применением подходящего металлического катализатора (например, BrettPhos или RuPhos и Pd₂(dba)₃) в подходящем растворителе (например, 1,4-диоксане) в присутствии подходящего основания (например, карбоната цезия, трет-бутоксид натрия или LiHMDS) при подходящей температуре (такой как 90-130°C); удаления защитной группы (PG), такой как THP, с применением кислотных условий (таких как безводный HCl в 1,4-диоксане) при подходящей температуре (такой как 10-30°C):

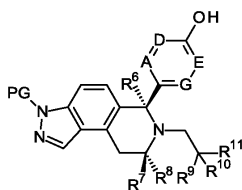


(II)

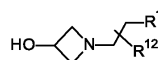


(IV)

с) алкилирования подходящего фенол- или гидроксилгетероарильного соединения формулы (V) с помощью спирта формулы (III) посредством реакции Мицунобу с применением соответствующих реагентов (таких как трифенилфосфин и диизопропил (Е)-диазен-1,2-дикарбоксилат) в подходящем растворителе (таком как THF); удаления защитной группы (PG), такой как THP, в формуле (VII) с применением кислотных условий (таких как безводный HCl в 1,4-диоксане) при подходящей температуре (такой как 10-30°C):

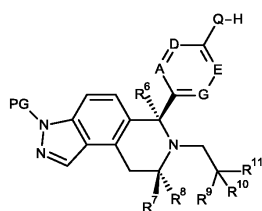


(V)

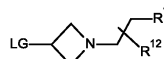


(III)

d) алкилирования подходящего анилинового, или гетероариламинового, или фенол- или гидроксилгетероарильного соединения формулы (VI) с помощью соединения формулы (VII), где LG представляет собой уходящую группу (такую как галогенид или мезилат) с применением слабых оснований (например, DIPEA) в подходящем растворителе (таком как DMF или MeCN); удаления защитной группы (PG), такой как THP, с применением кислотных условий (таких как безводный HCl в 1,4-диоксане) при подходящей температуре (такой как 10-30°C):

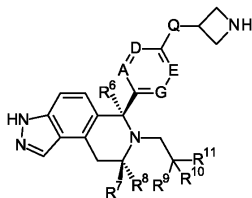


(VI)



(VII)

e) алкилирования аминов формулы (VIII) с помощью подходящей алкилирующей группы формулы (IX) (где LG может представлять собой галогенид, такой как бромид, иодид или хлорид, или может представлять собой другую подходящую уходящую группу, такую как мезилат) в подходящем растворителе (таком как DMF) в присутствии подходящего основания (такого как DIPEA) при подходящей температуре (такой как 10-30°C):

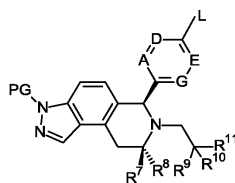


(VIII)



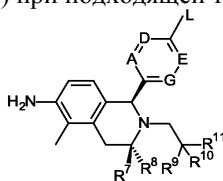
(IX)

Соединения формулы (II), где R⁶ не представляет собой водород, можно получать, например, из соединений формулы (X) путем окисления с помощью подходящего реагента (например, бис-(трифторацетокси)-йодбензола) и обработки металлоорганическим реагентом (например, бромметилмагнием, если R⁶ представляет собой метил) в подходящем растворителе (например, THF) при низкой температуре (как правило, от -80 до -60°C).



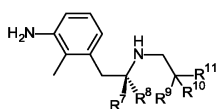
(X)

Соединения формулы (X) можно получать с помощью, например, реакции анилина формулы (XI) с реагентами, подходящими для обеспечения образования индазола, такими как неорганический нитрит (такой как нитрит натрия), в органической кислоте (такой как пропионовая кислота) при низкой температуре (как правило, от -20 до 0°C) или, альтернативно, с ангидридом кислоты (таким как уксусный ангидрид) в присутствии подходящего основания (такого как ацетат калия) вместе с органическим нитритом (таким как изопентилнитрит) необязательно в присутствии краун-эфира (такого как 18-краун-6) в подходящем растворителе (таком как хлороформ) при подходящей температуре (такой как 70°C).

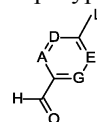


(XI)

Соединения формулы (XI) можно получать посредством реакции соединения формулы (XII) с соединением формулы (XIII) при условиях, известных в уровне техники, как подходящие для реакций Пикте-Шпенглера, как, например, в присутствии кислоты (такой как уксусная кислота) и в подходящем растворителе (например, толуол или вода) и при подходящей температуре (такой как 60 - 100°C).

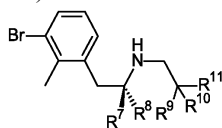


(XII)



(XIII)

Соединения формулы (XII) можно получать с помощью взаимопревращений функциональных групп, известных в данной области техники, например, посредством реакций аминирования галогенидов формулы (XIV) из арилгалогенидов (таких как бромид) с применением защищенного амина (такого как дифенилметанимин) в присутствии подходящего катализатора и лиганда (такого как бис-(дифенилиден)ацетон)палладий(0) и гас-2,2'-бис-(дифенилфосфино)-1,1'-бинафтил) в присутствии подходящего основания (такого как трет-бутоксид натрия) в подходящем растворителе (таком как толуол) при подходящей температуре (такой как 80 - 100°C).



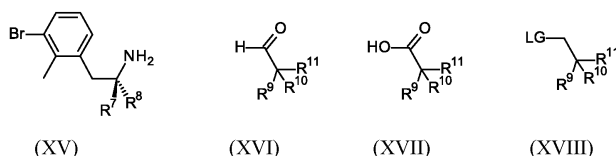
(XIV)

Соединения формулы (XIV) можно получать с помощью:

а) реакции соединения формулы (XV) с альдегидом формулы (XVI) в подходящем растворителе (например, THF) в присутствии подходящего восстановителя (такого как триацетоксиборогидрид натрия) и при подходящей температуре (такой как 20 - 30°C);

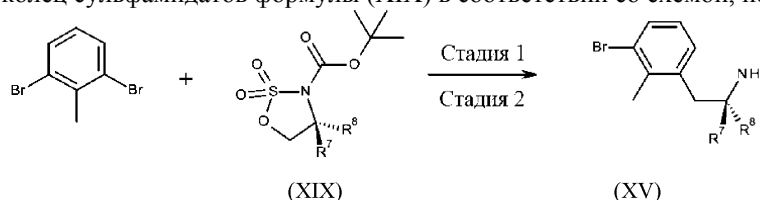
б) (i) реакции соединения формулы (XV) с кислотой формулы (XVII) в стандартных условиях для образования амидной связи (например, в присутствии реагента для реакции сочетания амидов (такого как HATU) и подходящего основания (такого как триэтиламин) в подходящем растворителе (таком как DMF)), затем (ii) восстановления образовавшейся амидной связи с применением подходящего восстановителя (такого как боран) в подходящем растворителе (таком как THF) при подходящей температуре (такой как 60 - 70°C);

с) реакции соединения формулы (XV) с соединением формулы (XVIII), где LG представляет собой подходящую уходящую группу (например, атом галогена (такой как бром или хлор) или трифлат), в присутствии подходящего основания (такого как диизопропилэтиламин) в подходящем растворителе (например, DCM или диоксане) и при подходящей температуре (такой как 20 - 85°C).



Соединения формулы (XV) можно получать несколькими способами, известными в данной области техники в первую очередь как способы синтеза хиральных аминов.

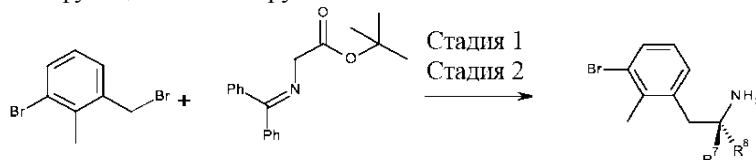
а) Раскрытие колец сульфамидатов формулы (XIX) в соответствии со схемой, показанной ниже.



Стадия 1. Алкилирование, например, *n*-бутиллитий/THP/-78-0°C.

Стадия 2. Удаление защитных групп, например безводная HCl в MeOH/DCM, к.т.

б) Межфазное алкилирование в присутствии хирального катализатора (такого как (1*S*,2*S*,4*S*,5*R*)-2-((*R*)-(аллилокси)(хинолин-4-ил)метил)-1-(антрацен-9-илметил)-5-винилхиноклидин-1-ия бромид) с последующей обработкой функциональной группы:



Стадия 1. Алкилирование, например хиральный катализатор, толуол/KOH, 0°C.

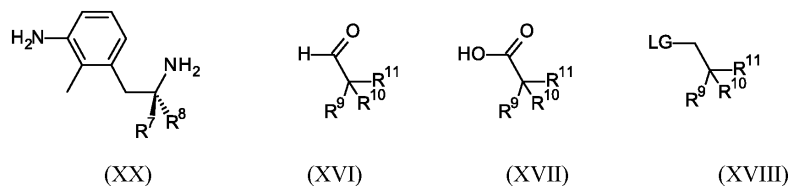
Стадия 2. Взаимопревращение функциональной группы.

Соединения формулы (XII) можно непосредственно получать с помощью:

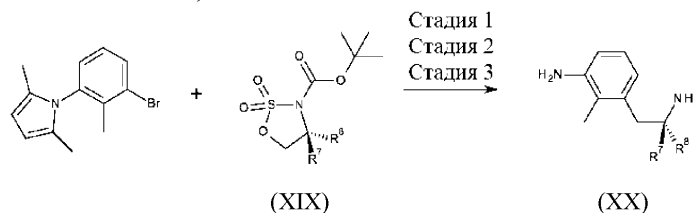
а) реакции соединения формулы (XX) с альдегидом формулы (XVI) в подходящем растворителе (например, THF) в присутствии подходящего восстановителя (такого как триацетоксиборгидрид натрия) и при подходящей температуре (такой как 20-30°C);

б) (i) реакции соединения формулы (XX) с кислотой формулы (XVII) в стандартных условиях для образования амидной связи (например, в присутствии реагента для реакции сочетания амидов (такого как HATU) и подходящего основания (такого как триэтиламин) в подходящем растворителе (таком как DMF)), затем (ii) восстановления образовавшейся амидной связи с применением подходящего восстановителя (такого как боран) в подходящем растворителе (таком как THF) при подходящей температуре (такой как 60-70°C);

в) реакции соединения формулы (XX) с соединением формулы (XIII), где LG представляет собой подходящую уходящую группу (например, атом галогена (такой как бром или хлор) или трифлат), в присутствии подходящего основания (такого как диизопропилэтиламин) в подходящем растворителе (например, DCM или диоксане) и при подходящей температуре (такой как 20-85°C):



Соединения формулы (XX) можно получать с помощью последовательности реакций, начиная с защищенного 3-бром-2-метил-анилина, как показано ниже.

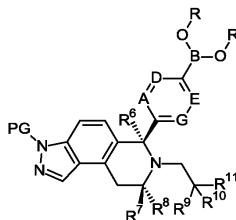


Стадия 1. Алкилирование, например *n*-бутиллитий/THF/от -78°C до к.т.

Стадия 2. Удаление защитных групп, предназначенных для амина, например безводная HCl в MeOH/DCM, к. т.

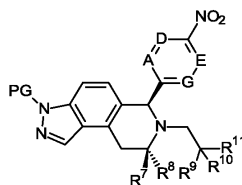
Стадия 3. Удаление защитных групп, предназначенных для анилина, например нагревание с обратным холодильником в гидроксиламине.

Соединения формулы (V) можно получать с помощью последовательности реакций, включающей осуществляемую в ходе реакции Пикте-Шпенглера циклизацию соединения формулы (XIII), содержащего сложный эфир бороновой кислоты, как описано выше, с получением соединения формулы (XXI). Соединение формулы (XXI) можно окислять до соединения формулы (V) с применением подходящего окислителя (такого как пероксид водорода) в присутствии подходящего основания (такого как гидроксид натрия) в подходящем растворителе (таком как THF).



(XXI)

Соединения формулы (VI), где Q представляет собой NH, можно получать с помощью последовательности реакций, включающей осуществляемую в ходе реакции Пикте-Шпенглера циклизацию нитро-содержащего соединения формулы (XIII), как описано выше, с получением соединения формулы (XXII). Соединение формулы (XXII) можно восстанавливать до соединения формулы (VI) с применением подходящих условий восстановления нитрогруппы (таких как гидрирование) в присутствии подходящего катализатора (такого как диоксид платины) в подходящем растворителе (таком как метанол).



(XXII)

Соединения формулы (VIII), где Q представляет собой O, можно получать из арилгалогенидов формулы (II) и трет-бутил-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилата с применением подходящего металлического катализатора (такого как прекатализатор 3-го поколения RockPhos) в подходящем растворителе (таком как толуол или DME) в присутствии подходящего основания (такого как карбонат цезия) при подходящей температуре (такой как 90-120°C); Вос-защитную группу можно впоследствии удалять с применением кислоты (такой как трифторуксусная кислота) в подходящем растворителе (таком как DCM). Соединения формулы (VIII) (Q представляет собой O) можно также получать из соединения формулы (V) при условиях, известных в уровне техники, как подходящие для реакций Мицунобу, с применением соответствующих реагентов (таких как трифенилфосфин и диизопропил-(E)-диазен-1,2-дикарбоксилат) с помощью трет-бутил-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилата в подходящем растворителе (таком как THF).

Соединения формулы (VIII), где Q представляет собой NH, можно получать из арилгалогенидов формулы (II) и трет-бутил-3-аминоазетидин-1-карбоксилата с применением подходящего металлического катализатора (например, RuPhos или BrettPhos и Pd₂(dba)₃) в подходящем растворителе (например, 1,4-диоксане) в присутствии подходящего основания (например, карбоната цезия, трет-бутоксид натрия или LiHMDS) при подходящей температуре (такой как 90-130°C); защитную Вос-группу можно впоследствии удалять с применением кислоты (такой как трифторуксусная кислота) в подходящем растворителе (таком как DCM).

Соединения формулы (III) можно получать путем:

a) осуществления реакции алкилирования между 3-гидроксиазетидином и соединениями формулы (IX), где LG представляет собой, например, галоген или другую уходящую группу (такую как мезильная группа), в присутствии подходящего основания, такого как карбонат цезия, в подходящем растворителе, таком как ацетонитрил, при подходящей температуре, такой как 120°C, и в подходящем контейнере, таком как герметично закрытая пробирка;

b) осуществления реакции восстановительного аминирования между 3-гидроксиазетидином и соединениями формулы (XXIII), представляющими собой альдегид или кетон, в присутствии подходящего восстанавливающего реагента, такого как триацетоксиборгидрид натрия, в подходящем растворителе, таком как DCM, при подходящей температуре, такой как 10-30°C.

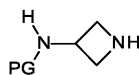


(XXIII)

Соединения формулы (IV) можно получать путем:

a) (i) осуществления реакции алкилирования между соединением формулы (XXIV), где PG пред-

ставляет собой защитную группу, например Boc, и соединениями формулы (IX), где LG представляет собой, например, галоген или другую уходящую группу, такую как мезилат, в присутствии подходящего основания, такого как DIPEA, в подходящем растворителе, таком как 1,4-диоксан, при подходящей температуре, такой как 10-30°C; (ii) удаления защитной группы в подходящих условиях, таких как кислотные условия для удаления Boc;



(XXIV)

b) (i) осуществления реакции восстановительного аминирования между соединениями формулы (XXIV) и соединениями формулы (XXIII), представляющими собой альдегид или кетон, в присутствии подходящего восстанавливающего реактива, такого как триацетоксиборогидрид натрия, в подходящем растворителе, таком как DCM, при подходящей температуре, такой как 10-30°C; (ii) удаления защитной группы в подходящих условиях, таких как кислотные условия для удаления Boc.

Следует понимать, что также возможны другие варианты стадий способа в вариантах способа, описанных выше.

Также будет понятно, что в некоторых из реакций, упомянутых выше в данном документе, может быть необходимой или желательной защита каких-либо реакционноспособных функциональных групп в соединениях. Случаи, когда необходима или желательна защита, а также подходящие способы обеспечения защиты известны специалистам в данной области. Традиционные защитные группы можно применять в соответствии со стандартной практикой (для иллюстрации см. T.W. Green, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley and Sons, 1991). Таким образом, если реагенты содержат такие группы, как амина, карбокси или гидроксильные, в некоторых из реакций, упомянутых в данном документе, может быть желательной защита групп.

Подходящей защитной группой для аминогруппы или алкиламиногруппы является, например, ацильная группа, например алканойльная группа, такая как ацетильная, алкоксикарбонильная группа, например метоксикарбонильная, этоксикарбонильная или трет-бутоксикарбонильная группа, арилметоксикарбонильная группа, например, бензилоксикарбонильная, или ароильная группа, например бензоильная. Условия снятия защитной группы для вышеуказанных защитных групп неизбежно изменяются в зависимости от выбора защитной группы. Так, например, ацильная группа, такая как алканойльная, или алкоксикарбонильная группа, или ароильная группа может быть удалена, например, путем гидролиза с использованием подходящего основания, такого как гидроксид щелочного металла, например, гидроксид лития или натрия. Альтернативно, алкоксикарбонильную группу, такую как трет-бутоксикарбонильная группа, можно удалять, например, путем обработки подходящей кислотой, такой как хлористоводородная, серная, муравьиная, фосфорная или трифторуксусная кислота, а арилметоксикарбонильную группу, такую как бензилоксикарбонильная группа, можно удалять, например, путем гидрирования над катализатором, таким как палладий на угле, или путем обработки кислотой Льюиса, такой как трис(трифторацетат) бора. Подходящей альтернативной защитной группой для первичной аминогруппы является, например, фталоильная группа, которую можно удалять с помощью обработки алкиламином, например диметиламинопропиламин или гидразин.

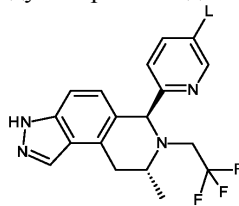
Подходящей защитной группой для гидроксигруппы является, например, ацильная группа, например алканойльная группа, такая как ацетил, ароильная группа, например бензоил, арилметильная группа, например бензил, или триалкил-, или диарилалкилсилан, такой как TBDMS или TBDPS. Условия снятия защитной группы для вышеуказанных защитных групп будут неизбежно варьироваться в зависимости от выбора защитной группы. Так, например, ацильная группа, такая как алканойльная или ароильная группа, может быть удалена, например, посредством гидролиза с использованием подходящего основания, такого как гидроксид щелочного металла, например, гидроксид лития или натрия. Альтернативно, арилметильная группа, такая как бензильная группа, может быть удалена, например, посредством гидрирования над катализатором, таким как палладий на угле.

Подходящей защитной группой для карбоксигруппы является, например, эстерифицирующая группа, например метильная или этильная группа, которую можно удалить, например, посредством гидролиза с использованием основания, такого как гидроксид натрия, или, например, трет-бутильная группа, которую можно удалить, например, путем обработки кислотой, такой как трифторуксусная кислота, или, например, бензильная группа, которую можно удалить, например, посредством гидрирования над катализатором, таким как палладий на угле.

Защитные группы могут быть удалены на любом удобном этапе синтеза с помощью традиционных методов, хорошо известных в области химии.

Некоторые из промежуточных соединений, определенных в данном документе, являются новыми, и они представлены в виде дополнительных признаков настоящего описания.

В одном варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (XXV) или его соль:



(XXV),

где L представляет собой бром, хлор, йод или трифторметансульфонил.

В дополнительном варианте осуществления L представляет собой бром.

Биологические анализы

Для измерения эффектов соединений в соответствии с настоящим описанием применяли следующие анализы.

Анализ связывания ER α .

Способность соединений связываться с выделенным лигандсвязывающим доменом рецептора эстрогена альфа (LBD ER-альфа (GST)) оценивали в конкурентных анализах с применением обнаружения методом резонансного переноса энергии флуоресценции с временным разрешением (TR-FRET) LanthaScreen™ по конечной точке. Для измерения связывания соединения с помощью TR-FRET LanthaScreen™ по конечной точке применяли подходящий флуорофор (Fluormone ES2, ThermoFisher, код продукта P2645) и рекомбинантный лигандсвязывающий домен рецептора эстрогена альфа человека, остатки 307-554 (экспрессированные и очищенные на месте). Принцип анализа заключается в том, что LBD ER-альфа (GST) добавляют к флуоресцентному лиганду с образованием комплекса рецептор-флуорофор. Меченные тербием антитела к GST (код продукта PV3551) применяют для опосредованного мечения рецептора путем связывания с его GST-меткой, и конкурентное связывание регистрируют по способности испытуемого соединения вытеснять флуоресцентный лиганд, приводя к потере сигнала TR-FRET между Tb-меченным антителом к GST и меткой. Анализ проводили следующим образом, при этом добавление всех реагентов проводили с применением рабочей станции для микрожидкостных систем BioRAPTR FRD от Beckman Coulter.

1. С помощью акустического дозатора распределяют по 120 нл испытуемого соединения в черные 384-луночные аналитические планшеты с малым объемом лунок.

2. Готовят 1× LBD ER-альфа/Tb-меченные Ab к GST в буфере для скрининга с применением ES2 и инкубируют в течение 15 мин.

3. Распределяют 6 мкл реагента, содержащего 1× LBD AR/Tb-меченные Ab к GST, в каждую лунку аналитического планшета, затем распределяют 6 мкл реагента, представляющего собой флуорофор, в каждую лунку аналитического планшета.

4. Накрывают аналитический планшет, чтобы защитить реагенты от света и испарения, и инкубируют при комнатной температуре в течение 4 ч.

5. Обеспечивают возбуждение при 337 нм и измеряют сигнал флуоресцентного излучения для каждой лунки при 490 и 520 нм с применением BMG PhER α STAR.

Дозы соединения вносили непосредственно из микропланшета, использующегося в качестве источника соединения, содержащего серийно разведенное соединение (4 лунки, содержащие соответственно 10, 0,1, 1 мМ и 10 нМ конечного соединения), в аналитический микропланшет с применением Labcyte Echo 550. Echo 550 представляет собой дозатор для жидкостей, в котором применяется акустическая технология для осуществления прямого переноса из микропланшета в микропланшет растворов соединений в DMSO, и систему можно запрограммировать для переноса различных малых объемов, порядка нл, соединения из различных лунок исходного планшета для получения необходимого серийного разведения соединения в аналитическом планшете, который затем снова заполняют, чтобы нормализовать концентрацию DMSO по всему диапазону разбавления.

Всего в каждую лунку добавляли по 120 нл соединения с DMSO, и испытания соединений осуществляли в формате построения кривой зависимости ответа от концентрации по 12 точкам в диапазоне конечной концентрации соединения, включающей соответственно 10, 2,917, 1,042, 0,2083, 0,1, 0,0292, 0,0104, 0,002083, 0,001, 0,0002917, 0,0001042 и 0,00001 мМ. Данные TR-FRET по зависимости доза-ответ, полученные для каждого соединения, экспортировали в подходящий пакет программного обеспечения (такой как Origin или Genedata) для осуществления анализа аппроксимации кривой. Конкурентное связывание ER-альфа выражали в виде значения IC₅₀. Его определяли путем расчета концентрации соединения, которая была необходима для 50% снижения связывания соединения, представляющего собой метку, с LBD ER-альфа.

Анализ супрессии ER в MCF-7.

Способность соединений супрессировать численность рецептора эстрогена (ER) оценивали в иммунофлуоресцентном анализе на клетках с применением клеточной линии MCF-7, полученной из карцино-

мы протоколов молочной железы человека. Клетки MCF-7 восстанавливали непосредственно из криофлакона (примерно 5×10^6 клеток) в аналитической среде (среда Игла в модификации Дульбекко (DMEM) без фенолового красного; Sigma D5921), содержащей 2 mM L-глутамин и 5% (об./об.) фетальной телячьей сыворотки, обработанной древесным углем/декстраном. Один раз клетки отбирали с применением шприца со стерильной иглой крупного калибра 18G×1,5 дюйма (1,2×40 мм) и измеряли плотность клеток с применением счетчика Коултера (Beckman). Клетки дополнительно разбавляли в аналитической среде до плотности $3,75 \times 10^4$ клетки/мл и добавляли по 40 мкл на лунку в черные 384-луночные планшеты (Corstar, № 3712) с прозрачным дном, обработанные для культуры ткани, с применением Thermo Scientific Matrix WellMate или Thermo Multidrop. После посева клеток планшеты инкубировали в течение ночи при 37°C, 5% CO₂ (инкубатор карусельного типа Liconic). Данные испытаний получали с применением устройства для переформирования смесей LabCyte Echo™ модель 555, которое является частью автоматизированной производственной ячейки (производственная ячейка Integrated Echo 2). Для обеспечения 384-луночного планшета для отбора доз соединения (Labcyte P-05525-CV1) применяли исходные растворы соединений (10 mM), представляющих собой испытываемые соединения. По 40 мкл каждого 10 mM исходного раствора соединения распределяли в лунку первого квадранта и затем осуществляли поэтапные серийные разведения 1:100 в DMSO с применением устройства для дозирования жидкостей Hydra II (MATRIX UK) с получением 40 мкл разбавленного соединения соответственно в лунках квадранта 2 (0,1 mM), 3 (1 мкМ) и 4 (0,01 мкМ). Добавление в лунки ряда Р исходного планшета по 40 мкл DMSO позволяло нормализовать DMSO во всем диапазоне доз. Для введения доз в контрольные лунки на исходном планшете с соединениями в ряд О1 добавляли 40 мкл DMSO и в ряд О3 добавляли 40 мкл 100 мкМ фульвестранта в DMSO.

В Echo применяется акустическая технология для осуществления прямого переноса по типу "из микропланшета в микропланшет" растворов соединений в DMSO в аналитические планшеты. Систему можно запрограммировать для многоэтапного переноса малых объемов, вплоть до 2,5 нл, между микропланшетами и получения таким образом серийного разведения соединения в аналитическом планшете, который затем снова заполняют, чтобы нормализовать концентрацию DMSO во всем диапазоне разбавления. Соединения распределяли в планшеты с клетками, при этом исходный планшет с соединениями подготавливали, как указано выше, с получением 12 точек концентраций, с диапазоном доз от 3 мкМ до 3 пМ, каждая в двух повторностях, с помощью 3-кратных разведений и одного конечного 10-кратного разведения с применением производственной ячейки Integrated Echo 2. В контрольные лунки с максимальным сигналом вводили дозы DMSO с получением конечной концентрации 0,3% и в контрольные лунки с минимальным сигналом вводили дозы фульвестранта с получением конечной концентрации 100 нМ соответственно. Планшеты дополнительно инкубировали в течение 18-22 ч при 37°C, 5% CO₂, а затем фиксировали посредством добавления 20 мкл 11,1% (об./об.) раствора формальдегида (в фосфатно-солевом буфере (PBS)) с получением конечной концентрации формальдегида 3,7% (об./об.). Клетки фиксировали при комнатной температуре в течение 20 мин., а затем дважды промывали с помощью 250 мкл PBS/Proclin (PBS с биоцидным консервантом) с применением устройства для промывки планшетов BioTek, затем во все лунки добавляли по 40 мкл PBS/Proclin и планшеты хранили при 4°C. Описанный выше способ фиксации осуществляли на производственной ячейке Integrated Echo 2. Иммуное окрашивание проводили с применением автоматизированной производственной ячейки AutoElisa. PBS/Proclin удаляли из всех лунок с помощью вакуумирования, и клетки пермеабилizировали с помощью 40 мкл PBS, содержащего 0,5% Tween™ 20 (об./об.) в течение 1 ч при комнатной температуре. Планшеты трижды промывали в 250 мкл PBS/0,05% (об./об.) Tween 20 с помощью Proclin (PBST с биоцидным консервантом) и затем добавляли 20 мкл 1:1000 раствора моноклонального антитела кролика к ERα (SP1) (ThermoFisher) в PBS/Tween™/3% (вес./об.) бычий сывороточный альбумин. Планшеты инкубировали в течение ночи при 4°C (инкубатор карусельного типа Liconic) и затем трижды промывали в 250 мкл PBS/0,05% (об./об.) Tween™ 20 с Proclin (PBST). Затем планшеты инкубировали с антителом козы к IgG кролика с AlexaFluor 594 или антителом козы к иммуноглобулинам кролика с AlexaFluor 488 (Molecular Probes) в количестве 20 мкл/лунка с раствором 1:5000 Hoechst в PBS/Tween™/3% (вес./об.) бычий сывороточный альбумин в течение 1 ч при комнатной температуре. Затем планшеты трижды промывали в 250 мкл PBS/0,05% (об./об.) Tween™ 20 с Proclin (PBST с биоцидным консервантом). В каждую лунку добавляли по 20 мкл PBS и планшеты накрывали при помощи черной пленки для планшетов и хранили при 4°C перед считыванием. Планшеты считывали с применением Celloomics Arrayscan, считывая уровень флуоресценции при 594 нм (момент времени 24 ч) или 488 нм (момент времени 5 ч) для измерения уровня содержания рецептора ERα в каждой лунке. Среднюю общую интенсивность нормализовали по количеству клеток, получая значение общей интенсивности на клетку. Данные экспортировали в подходящий пакет программного обеспечения (такой как Origin) для анализа аппроксимации кривой. Уровень супрессии рецептора ERα выражали в виде значения IC₅₀ и определяли путем расчета концентрации соединения, которая была необходима для получения 50% снижения среднего значения максимального сигнала общей интенсивности.

Были получены данные, показанные в табл. А (нижеприведенные данные могут представлять собой

результат однократного эксперимента или среднее по двум или большему количеству экспериментов).

Таблица А

Пример	Значение IC50	Значение IC50 для
	для связывания ER (нМ)	супрессии ER (нМ) ¹
1	3,7	0,10
2	2,8	3,1
3	6,5	0,64
4	6,9	0,34
5	2,2	0,077
6	8,8	0,35
7	8,4	0,4
8	2,0	0,055
9	360	>300
10	8	0,26
11	20	0,094
12	2,4	0,25 (83%)
13	3,5	0,11
14	6,6	>300
15	9,5	0,33 (84%)
16	6,9	0,54
17	2,4	0,16
18	29	0,42
19	2,6	0,063
20	15	0,36
21	2,1	0,098
22	5,7	0,062
23	15	0,15
24	10	0,21
25	4,1	0,33
26	6,7	0,52
27	0,81	0,05
28	5,7	0,065
29	1,6	0,2

037533

30	1,8	0,28
31	13	0,54
32	2,1	0,096
33	1,4	0,1
34	1,9	0,22
35	1,5	0,17
36	1,8	0,12
37	7,2	4,1
38	0,69	0,19
39	0,94	0,048
40	1,3	0,1
41	2,4	0,17
42	3,8	0,28
43	4,1	0,25
44	9,6	0,91
45	1,6	0,3
46	3,6	0,4
47	1,2	0,41
48	1,5	0,078
49	1,5	0,075
50	2,7	0,47
51	2,8	0,68
52	11	0,21
53	5,7	0,26
54	160	>300
55	8,2	1,1
56	8,2	0,58
57	5	0,36
58	2,1	0,56
59	7,2	1,6
60	4,7	0,19
61	0,88	0,13
62	1	0,13
63	73	0,31
64	6,1	0,22
65	5,3	1
66	6,2	0,44
67	5	0,27
68	15	0,4
69	8,9	0,55
70	4,3	0,31
71	2	0,17
72	2,9	0,51
73	3,4	0,77

¹Соединения, которые в анализе супрессии ER являются активными, в анализе демонстрируют значения супрессии, составляющие >90%, если не указано иное, в таком случае % супрессии показан в скобках.

Анализ методом вестерн-блоттинга.

Способность соединений супрессировать рецептор эстрогена (ER) оценивали с помощью вестерн-блоттинга с применением клеточных линий рака молочной железы человека (MCF-7 и CAMA-1). Клетки помещали в 12-луночные обработанные для культуры ткани планшеты из расчета $0,5 \times 10^6$ /луночка в RPMI без фенолового красного, содержащем 2 mM L-глутамин и 5% (об./об.) фетальной телячьей сыворотки, обработанной древесным углем (F6765, Sigma). Клетки инкубировали с соединениями (100 nM) или контролем в виде среды-носителя (0,1% DMSO) в течение 48 ч при 37°C, 5% CO₂, после чего промывали один раз с помощью PBS и лизировали с помощью 80 мкл буфера для лизиса (25 mM Трис/HCl, 3 mM EDTA, 3 mM EGTA, 50 mM NaF, 2 mM ортованадата натрия, 0,27 M сахарозы, 10 mM β-глицерофосфата, 5 mM пирогосфата натрия, 0,5% TritonX-100, pH6,8) на льду.

Перед осуществлением белкового анализа клетки соскабливали, подвергали воздействию ультразвука и центрифугировали (набор для белкового анализа 500-0116, DC Bio-Rad), затем образцы доводили до концентрации белка 1-2 мг/мл в буфере для лизиса, содержащем 1× буфер для образцов LDS (NP0007, Invitrogen) и 1× средство для восстановления образцов NuPAGE (NP0009, Invitrogen). Образцы кипятили в течение 10 мин при 95°C и затем замораживали при -20°C до возникновения необходимости в применении.

10-20 мкг белка загружали в 26-луночные гели Criterion (BioRad 345-0034). Гели выдерживали при 125 В в течение 1 ч 25 мин в подвижном буфере (24 mM Tris Base Sigma, 192 mM глицин, 3,5 mM SDS, приготовленный в дистиллированной воде). Затем при 30 В в течение 2 ч в буфере для блоттинга (25 mM Tris, 192 mM глицина, 20% (об./об.) метанола, pH 8,3, приготовленном в дистиллированной воде) осуществляли перенос с гелей на нитроцеллюлозную мембрану. Мембрану для блоттинга окрашивали с помощью Ponceau S (P7170, Sigma) и вырезали в соответствии с маркерами с соответствующей молекулярной массой.

Мембраны блокировали в течение 1 ч при комнатной температуре, в 5% Marvel (вес./об.) в фосфатно-солевом буфере, содержащем 0,05% Tween™ 20 (PBS/Tween). Затем мембраны для блоттинга инкубировали с моноклональным антителом кролика к ERα (SP1) (ThermoFisher), разведенным 1:1000, при 4°C в течение ночи (при осторожном встряхивании) с последующими несколькими промывками с помощью PBS/Tween. Вторичное антитело к иммуноглобулинам кролика, конъюгированное с HRP (7074, CST), разведенное до разведения 1:2000, инкубировали в течение 2 ч при комнатной температуре (при осторожном встряхивании) с последующими несколькими промывками с помощью PBS/Tween. Все антитела готовили в 5% Marvel (вес./об.) в PBS/Tween.

Иммуноблоты проявляли с применением реактивов для хемилюминесцентного анализа Pierce WestDura (Thermo Scientific 34076) и проявляли/количественно определяли на G-box с применением программного обеспечения Syngene. Значение супрессии рецептора ERα нормализовали по контролю в виде среды-носителя (супрессия 0%) и контролю, представляющему собой 100 nM фульвестрант (супрессия 100%), прогнанный на том же геле.

В табл. В показаны данные, полученные для выбранных примеров (нижеприведенные данные могут представлять собой результат однократного эксперимента или среднее по двум или большему количеству экспериментов).

Таблица В

Пример	Вестерн- блоттинг для САМА1 % депр. ER по сравнению с Fv	Вестерн-блоттинг для MCF7 % депр. ER по сравнению с Fv
1	92	91
2	95	93
3	102	90
4	61	70
5	109	99
6	84	89
7	90	90
8	100	101
9	25	-13
16	105	104
17	96	92
18	95	103
19	94	92
21	101	99
25	96	98
26	97	97
27	108	110
28	110	95
29	106	93
30	98	96
31	95	103
32	89	89
33	102	98
34	82	85
40	120	98
42	79	92
46	102	105
48	94	93
49	99	98
53	46	81
56	52	61
59	102	104
64	89	86
69	98	95
70	100	102

Анализ с использованием гепатоцитов человека.

Метаболическую устойчивость соединений в гепатоцитах человека оценивали с применением следующего протокола.

1. Готовят 10 мМ исходные растворы соединения и контрольных соединений в соответствующем растворителе (DMSO). Инкубационную среду (среду L-15) помещают в водяную баню при 37°C и нагревают в течение по меньшей мере 15 мин перед применением.

2. Добавляют 80 мкл ацетонитрила в каждую лунку 96-луночного планшета с глубокими лунками (планшет для блокировки).

3. В новом 96-луночном планшете разбавляют 10 мМ испытуемые соединения и контрольные соединения до 100 мкМ путем объединения 198 мкл ацетонитрила и 2 мкл 10 мМ исходного раствора.

4. Извлекают флакон с криоконсервированными (при температуре менее -150°C) гепатоцитами человека (гепатоциты человека от 10 доноров LiverPool™, полученные из Celsis IVT, Чикаго, Иллинойс (№ продукта S01205)) из хранилища, убедившись, что флаконы остаются при криогенных температурах до тех пор, пока не начнется процесс оттаивания. Как можно быстрее размораживают клетки, поместив флакон в водяную баню при 37°C и осторожно встряхивая флаконы. Флаконы должны оставаться в водяной бане до тех пор, пока все кристаллы льда не растворятся и больше не будут видны. После завершения размораживания флакон опрыскивают 70% этанолом, флакон переносят в бокс микробиологической безопасности.

5. Открывают флакон и выливают содержимое в коническую пробирку объемом 50 мл, содержащую среду для размораживания. Помещают коническую пробирку объемом 50 мл в центрифугу и центрифугируют при 100 g в течение 10 мин. После завершения центрифугирования среду для размораживания удаляют вакуумированием и гепатоциты ресуспендируют в достаточном количестве инкубационной среды с получением $\sim 1,5 \times 10^6$ клеток/мл.

6. С применением Cellometer® Vision подсчитывают клетки и определяют плотность жизнеспособных клеток. Клетки с низкой жизнеспособностью (жизнеспособность <80%) неприемлемы для применения. Клетки разводят инкубационной средой до рабочей плотности клеток, составляющей $1,0 \times 10^6$ жизнеспособных клеток/мл.

7. В каждую лунку 96-луночного планшета для культур клеток переносят по 247,5 мкл гепатоцитов. Помещают планшет на встряхиватель для планшетов Eppendorf Thermomixer Comfort для нагревания гепатоцитов в течение 10 мин.

8. Добавляют 2,5 мкл 100 мкМ испытуемого соединения или контрольных соединений на инкубационную лунку, содержащую клетки, перемешивают до достижения гомогенной суспензии через 0,5 мин, что при достижении будет определять момент времени 0,5 мин. Через 0,5 мин 20 мкл инкубированной смеси переносят в лунки в "планшете для блокировки" с последующим перемешиванием вихревым способом.

9. Планшет инкубируют на встряхивателе для планшетов Eppendorf Thermomixer Comfort при 37°C при 900 об/мин. Через 5, 15, 30, 45, 60, 80, 100 и 120 мин инкубационную систему перемешивают и в каждый момент времени образцы инкубированной смеси объемом 20 мкл переносят в лунки в отдельном "планшете для блокировки" с последующим перемешиванием вихревым способом.

10. Планшеты для блокировки центрифугируют в течение 20 мин при 4000 об/мин, 4 различных соединения собирают в одну кассету и применяют для LC/MS/MS-анализа.

Все расчеты проводили с применением Microsoft Excel. Площади пиков определяли по экстрагированным ионным хроматограммам. Собственный клиренс *in vitro* ($\text{in vitro Cl}_{\text{int}}$, в л/мин./ 10^6 клеток) исходного соединения определяли с помощью регрессионного анализа кривой зависимости $\ln$ процента исчезновения исходного соединения от времени. Собственный клиренс *in vitro* ($\text{in vitro Cl}_{\text{int}}$, в л/мин./ 10^6 клеток) определяли из значения наклона с применением следующего уравнения, и для выбранных примеров его значения показаны в табл. С.

$$\text{in vitro Cl}_{\text{int}} = kV/N$$

где V = объем инкубирования (0,25 мл); N = число гепатоцитов на лунку ($0,25 \times 10^6$ клеток).

Таблица С

Пример	Cl_{int} (мкл/мин./ 10^6 клеток)
1	11
2	6
3	5
6	2
11	7
17	6
18	3
19	5
21	6
25	5
28	5
48	4

Физические свойства.

$\log D$.

Липофильность лекарственного средства является важным физическим свойством, которое может

влиять на множество биологических и метаболических свойств соединения, например абсорбцию, распределение, метаболизм, экскрецию и профили токсичности соединения. Коэффициент распределения между 1-октанолом и водным буфером, LogDO/W, при pH 7,4 является наиболее широко применяемым показателем липофильности соединения. Применяемый в настоящее время способ измерения LogDO/W основан на традиционной методике встряхиваемой колбы, однако с модификацией, состоящей в измерении одновременно десяти соединений в смесях с применением UPLC с количественной масс-спектрометрией (MS) в качестве способа измерения относительных концентраций в октаноле и воде. Максимальная емкость составляет 379 рабочих соединений (48 совокупностей по 10 соединений, в том числе три соединения QC) на эксперимент. Два образца контроля качества (QC), циклобензаприн со средним значением LogD и никардипин с высоким значением LogD, применяют со всеми совокупностями для обеспечения надлежащего качества. Применяют дополнительный образец QC, кофеин, с низким значением LogD, который произвольным образом размещают во всех циклах. Способ был тщательно проверен на соответствие ранее использовавшимся методикам встряхиваемой колбы.

Растворимость.

Для того чтобы соединение, предназначенное для перорального применения, достигло места действия, и, для того чтобы произошла абсорбция соединения для перорального введения из кишечника, такое соединение должно находиться в растворе, и, следовательно, соединения, которые обладают высокой собственной растворимостью, могут быть более подходящими для фармацевтического применения. Термодинамическую растворимость исследуемого соединения измеряют в стандартных условиях. Это метод встряхиваемой колбы, в котором применяются растворы на основе 10 mM DMSO, которые поставляют из хранилища жидких соединений Compound Managements, и этот способ характеризуется высокой пропускной способностью. Высушенные соединения уравнивают в водном фосфатном буфере (pH 7,4) в течение 24 ч при 25°C, затем часть с растворенным соединением отделяют от остатка. Растворы анализируют и подвергают количественному определению с применением UPLC/MS/MS, образцы QC включают в каждый цикл анализа для обеспечения качества анализа. Связывание с белком плазмы крови человека Связывание с белком плазмы крови человека является ключевым фактором в контроле количества свободного (несвязанного) лекарственного средства, доступного для связывания с мишенью, и, следовательно, играет важную роль в наблюдаемой эффективности лекарственных средств *in vivo*. Следовательно, соединения, которые характеризуются высоким содержанием свободной фракции (низким уровнем связывания с белком плазмы крови), могут демонстрировать повышенную эффективность относительно соединения с аналогичными уровнями активности и степени воздействия. Автоматизированный анализ методом равновесного диализа в плазме крови человека осуществляют с применением устройства RED (для быстрого равновесного диализа) и обработки образцов. Анализ обычно длится от двух до трех дней, включая выдачу результатов. После диализа в течение 18 ч образцы плазмы крови и буфера готовят для анализа методом жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии. Образцы обычно тестируют в одной повторности и количественно оценивают с помощью LC/MSMS, применяя калибровочную кривую, построенную по 7 точкам, в плазме крови. Соединения объединяют в плазматические совокупности по не более 10 соединений. В каждом цикле применяют по три эталонных соединения: пропранолол и метопролол и варфарин. Варфарин применяют в качестве контроля в каждой совокупности, а пропранолол и метопролол в каждом цикле размещают произвольным образом. Макрос Excel для внутреннего пользования применяют для подготовки файлов для роботизированной станции и масс-спектрометра и также применяют для расчетов содержания несвязанной фракции (fu%) в плазме крови.

В табл. D показаны данные по LogD, растворимости и связыванию с белком плазмы крови, полученные для выбранных примеров (нижеприведенные данные могут представлять собой результат однократного эксперимента или среднее по двум или большему количеству экспериментов).

Таблица D

Пример	LogD pH 7,4	Связывание с белком плазмы крови человека (% свободного)	Растворимость (мкМ)
1	3,4	8,3	379

037533

2	2,6	28	217
3	2,5	26	>941
4	2,7	21	991
5	3,3	8,6	297
6	2,4	34	>947
7	3,5	11	470
8	4,4	0,99	90
9	1	21	>1000
10	2,8	23	634
11	3,9	2	186
12	3,9	2,7	77
13	4	6,4	78
14	2,6	16	897
15	2,5	34	821
16	2	64	982
17	2,9	23	833
18	2,6	34	910
19	3,7	4,3	152
20	2,8	29	730
21	3,1	12	634
22	4	4,6	70
23	3,1	9,5	339
25	2,5	40	964
26	3	22	258
27	3,8	3,8	229
28	3,6	6	150
29	3	16	779
30	3	16	754
31	2	44	>942
32	3,5	6,5	692
33	3,6	5,4	466

34	3,2	15	471
37	2,6	25	961
38	3,1	13	794
39	3,7	6,8	257
40	3,5	6,4	479
41	4,1	2,2	120
42	2,4	н. и.	712
44	3,2	10	998
45	3,9	6,2	172
46	2,5	31	>1000
47	2,6	н. и.	>1000
48	3,1	10	582
49	3,8	н. и.	163
50	2,1	н. и.	748
51	2,7	28	>1000
52	3	19	864
53	3,2	11	691
54	1,4	57	>1000
55	2,1	н. и.	987
56	3,6	н. и.	377
57	2,9	н. и.	615
58	2,4	н. и.	633
59	2,4	33	971
60	2,5	23	593
61	2,7	29	848
62	2,8	19	784
63	3,2	10	870
64	3,2	14	474
65	2,4	н. и.	790
66	2,3	н. и.	931
67	2,7	19	914
68	2,4	37	561
69	2,9	37	>1000
70	2,9	24	857
71	3,2	н. и.	666
72	3,3	14	738
73	3	22	925

н. и. = не исследовали.

Анализ связывания с hERG

Калиевые каналы, кодируемые hERG (ген специфических калиевых каналов сердца человека), являются важными для нормальной электрической активности сердца. Аритмия может возникать в результате блокирования hERG-каналов разнородной группой лекарственных средств. Данный побочный эффект является частой причиной получения неудовлетворительного результата при доклинических испытаниях безопасности лекарственного средства [Sanguinetti et al., Nature., 2006, 440, 463-469.], и, следовательно, сведение к минимуму активности в отношении блокирования hERG-канала может быть актуальным свойством для кандидатных лекарственных средств.

Целью анализа связывания с hERG является оценка эффектов испытуемых соединений в отношении потенциал-зависимого калиевого канала, кодируемого геном специфических калиевых каналов сердца человека (hERG), с применением конститутивно экспрессирующей клеточной линии CHO на автоматизированной системе для фиксации потенциала Nanion Syncropatch 384PE. Анализ проводили сле-

дующим образом, причем все реагенты применяли при комнатной температуре, если не указано иное. Приготовление реагентов включает:

1) внутренний раствор "IC700", применяемый для заливки в нижнюю часть чипа (в mM): 130 KF, 20 KCl, 1 MgCl₂, 10 EGTA и 10 HEPES (все от Sigma-Aldrich; pH 7,2-7,3 с применением 10 M KOH, 320 мосм) и с добавкой 25 мкМ эсцина;

2) внешний буфер и буфер для клеток (в mM): 137 NaCl, 4 KCl, 10 HEPES, 10 D-глюкозы, 2 CaCl₂, 1 MgCl₂ (pH 7,4, NaOH);

3) "эталонный" буфер NMDG, применяемый для установления стабильной базовой линии перед добавлением испытуемых соединений (в mM): 80 NaCl, 4 KCl, 2 CaCl₂, 1 MgCl₂, 60 NMDG Cl, 5 моногидрата D-глюкозы, 10 HEPES (pH 7,4 NaOH 298 мосм);

4) усилитель контакта, применяемый для улучшения способности клеток образовывать контакт (в mM): 80 NaCl, 3 KCl, 10 CaCl₂, 10 HEPES, 1 MgCl₂ (pH 7,4 NaOH).

Препараты клеток.

1. При применении культуры клеток клетки необходимо инкубировать при 30°C в течение примерно 4-6 дней до применения. В день анализа клетки снимают с применением аккутазы и ресуспендируют в 20 мл буфера для клеток до плотности от 0,8 до 1е6 клеток/мл.

2. При использовании готовых для анализа криопробирок быстро размораживают две криопробирки при 37°C и медленно вносят с помощью пипетки в 23 мл внешнего раствора.

3. Перед началом анализа все препаративные клетки необходимо инкубировать в течение 15 мин во встряхивателе-инкубаторе для клеток, установленном на 10°C.

Приготовление соединений.

Все соединения распределяли с помощью акустической технологии в четырех повторностях с применением Labcyte Echo. 10 mM исходный раствор применяют для получения 6 исходных планшетов с соединениями, каждый с отличной концентрацией, для нанесения на клетки кумулятивных доз (0,03167, затем 0,1, затем 0,3167, 1, 3,167, 10 mM). В каждую лунку исходных планшетов добавляют по 90 мкл эталонного буфера, содержащего 600 нл соединения с получением конечной концентрации соединения, составляющей соответственно 0,1, 0,39, 1,2, 3,9, 12,5 и 39,6 мкМ.

Анализ на hERG (все стадии распределения осуществляли на Nanion syncropatch с применением настройки для дозирования жидкостей).

1. В 384-луночные 4-канальные чипы со средним сопротивлением вносят 40 мкл внешнего буфера и заливают внутренний буфер в нижнюю часть планшета.

2. В каждую лунку чипа распределяют по 20 мкл клеток, затем по 20 мкл усилителя контакта.

3. Из каждой лунки в блок промывки удаляют по 40 мкл реагента, оставляя остаточный объем, составляющий 40 мкл.

4. Распределяют 40 мкл эталонного буфера со стадией удаления 40 мкл через 3 мин, повторяют эту стадию.

5. Распределяют 40 мкл соединения из планшета 1 (0,03167 mM), регистрируют "в реальном времени" при воздействии в течение 3 мин, после чего удаляют 40 мкл. Эту стадию повторяют еще для 5 следующих планшетов с соединениями в возрастающих концентрациях для построения кумулятивной кривой концентрация-эффект для каждой лунки чипа Syncropatch.

Опосредованные hERG токи генерировали с применением протокола создания перепада напряжения, состоящего из прерывистого поддержания напряжения на уровне -80 мВ, со стадией повышения до 60 мВ продолжительностью 500 мс, с последующей стадией снижения до -40 мВ продолжительностью 500 мс, с шагом 15 с. Величину тока через hERG измеряли автоматически на основе записи в режиме вычитания утечки с помощью программного обеспечения Nanion путем записи пика "следового" тока hERG при -40 мВ с шагом 15 с и используя последние три такие отклика для каждой концентрации для построения кривой концентрация-эффект.

Расчет результатов проводят с применением пакета APC в составе Genedata. Для стандартной нормализации данных лунок с применением в качестве эталона групп нейтральных контрольных лунок и групп лунок с контролем ингибитором в GeneData Assay Analyzer для нормализации значений сигнала до желаемого диапазона сигнала применяется следующее уравнение:

$$N(x) = CR + \frac{x - <cr>}{<sr> - <cr>} (SR - CR)$$

$$<sr> - <cr>$$

где x представляет собой исходное значение измеренного сигнала от лунки;

<cr> представляет собой среднее значений измеренных сигналов от лунок на планшете, представляющих собой центральный эталон (нейтральный);

<sr> представляет собой среднее значений измеренных сигналов от лунок на планшете, представляющих собой эталон шкалы (с ингибитором);

CR представляет собой необходимое значение для центрального эталона (нейтральный), нормализованное по среднему;

SR представляет собой необходимое значение для эталона шкалы (с ингибитором), нормализован-

ное по среднему.

В табл. Е показаны данные по связыванию с hERG для выбранных примеров (нижеприведенные данные могут представлять собой результат однократного эксперимента или среднее по двум или большему количеству экспериментов).

Таблица Е

Пример	IC ₅₀ hERG (мкМ)	Пример	IC ₅₀ hERG (мкМ)
1	10	41	6,5
2	>40	42	7,9
3	>36	45	4,2
4	17	46	>40
5	13	49	8,2
6	9,1	50	13
16	>40	51	9,1
17	22	52	2
18	>38	55	>40
19	5,4	57	16
21	5,3	58	>40
25	28	59	>40
27	7,9	60	11
28	7,8	61	>40
29	27	62	>40
30	>33	63	13
31	>40	64	13
32	14	65	31
33	14	66	26
34	7,7	67	14
37	20	68	>40
38	18	69	24
39	14	70	24
40	4,5	73	12

Проницаемость.

С целью максимизации абсорбции соединения для перорального введения лекарственное средство должно характеризоваться достаточным уровнем трансмембранного переноса, а также избегать выведения Р-гликопротеином. Наиболее широко применяемой системой для прогнозирования абсорбции соединения для перорального введения является определение уровня проникновения соединений через монослой клеточной линии аденокарциномы толстой кишки человека Сасо-2.

Двунаправленная проницаемость Сасо-2 человека в направлении от А к В и от В к А.

Для определения двунаправленной проницаемости (выведение и захват) соединений в клетках Сасо-2 применяли автоматизированный анализ, который проводили в течение 2 ч при pH 7,4. Образцы анализировали посредством LC/MS/MS для оценки кажущихся коэффициентов проницаемости (P_{app}) соединений в монослоях клеток Сасо-2, и результаты приведены в единицах ×10⁻⁶ см/с.

Долю выведения (ER) можно определять с применением следующего уравнения:

$$ER = P_{app (B-A)} / P_{app (A-B)},$$

где P_{app (B-A)} означает кажущийся коэффициент проницаемости для направления от базолатеральной к апикальной стороне;

P_{app (A-B)} означает кажущийся коэффициент проницаемости для направления от апикальной к базолатеральной стороне.

P_{app} для пассивной проницаемости Сасо-2 человека в направлении от А к В.

Для определения пассивной проницаемости соединений в монослоях клеток Сасо-2 применяли автоматизированный анализ, который проводили в течение 2 ч при pH 6,5 на апикальной стороне и pH 7,4

на базолатеральной стороне. Анализ ингибирования Сасо-2 АВ проводят с применением химического ингибирования в Сасо-2 клетках трех основных эффлюксных транспортеров: ABCB1 (P-gp), ABCG2 (BCRP) и ABCC2 (MRP2). Инкубацию как апикальной, так и базолатеральной сторон проводят с помощью смеси ингибиторов (50 мкМ хинидина, 20 мкМ сульфасалазина и 100 мкМ бензбромарона). Образцы анализировали посредством LC/MS/MS для оценки кажущихся коэффициентов проницаемости (P_{app}) соединений в монослоях клеток Сасо-2, и результаты приведены в единицах $\times 10^{-6}$ см/с.

В табл. F показаны данные по проницаемости, полученные для выбранных примеров (нижеприведенные данные могут представлять собой результат однократного эксперимента или среднее по двум или большему количеству экспериментов).

Таблица F

Пример	P_{app} для двунаправленной проницаемости Сасо-2 ($\times 10^{-6}$ см/с)	Доля выведения для двунаправленной проницаемости Сасо-2	P_{app} для пассивной проницаемости Сасо-2 ($\times 10^{-6}$ см/с)
1	0,9	9,4	н. и.
2	3,9	8,4	н. и.
3	2,3	9,2	н. и.
6	0,9	28	1,8
11	1,6	1,4	н. и.
16	1,6	9,7	1,7
17	4,7	5,5	13,3
19	4,2	2,6	н. и.
21	4,0	1,6	14,1
25	5,0	7,4	5,9
27	5,4	0,9	н. и.
28	1,2	3,8	24
29	12	0,9	24
30	2,7	7,8	н. и.
31	0,9	9,4	н. и.
32	3,4	1,5	н. и.
33	2,6	1,5	н. и.
47	18	1,1	н. и.
60	0,7	34	н. и.
64	2,0	5,6	н. и.

н. и. = не исследовали.

Противоопухолевая эффективность у мыши в отношении ксенотрансплантата, представляющего собой исходную MCF7 человека.

Для определения эффекта примера 17 в отношении роста ксенотрансплантатов MCF7 проводили следующее исследование. Передимплантацией клетки MCF7 (ATCC) выращивали *in vitro* в экспоненциальной фазе. Вкратце, самцам мышей SCID весом 18 г или более (Envigo UK) на спину подкожно имплантировали пеллеты с эстрогеном (0,5 мг, с высвобождением в течение 21 дня, от Innovative Research of America) с применением средства для возобновляемой анестезии. Через один день мышей инокулировали подкожно с левого бока с применением 5 млн MCF7 клеток, полученных в виде 0,1 мл клеточной суспензии в 1:1 смеси RPMI (Gibco, Life Technologies) и матригеля (Corning). Когда опухоли достигали ~ 250 мм³, мышей в случайном порядке распределяли в группы по 9 мышей (12 мышей для контроля в виде среды-носителя) и начинали обрабатывать лекарственным средством. Соединения получали в среде-носителе (40% тетраэтиленгликоля (об./об.), 7,5% каптизола (вес/об.) в воде для инъекций) и давали перорально в объеме 10 мл/кг один раз в день в течение 21 дня в дозе от 0,5 до 50 мг/кг. Опухоли измеряли дважды в неделю и объем опухоли рассчитывали с применением формулы для тела с эллиптическим сечением ($\pi/6 \times \text{ширина} \times \text{ширина} \times \text{длина}$). Данные представляют собой среднее геометрическое объ-

ема опухоли относительно объема опухоли в день распределения в случайном порядке. Планки погрешностей представляют собой 95% доверительный интервал (Graphpad Prism). В данном исследовании продемонстрировано, что дозы, составляющие 10 мг/кг и выше, обеспечивали регрессию опухоли (фиг. 12).

Противоопухолевая эффективность у мыши в отношении ксенотрансплантата, представляющего собой MCF7 человека с мутацией Y537S в ESR1.

Для определения эффекта примера 17 в отношении роста ксенотрансплантатов, полученных из клеток MCF7, генетически сконструированных для экспрессии Y537S ESR1, проводили следующее исследование. Клетки MCF7 с Y537S в ESR1 созданы путем редактирования генома и экспрессируют только Y537S ESR1 (Ladd, et al., *Oncotarget*, 2016, 7:54120-54136). Вкратце, самцов мышей SCID весом 18 г и более (Envigo UK) инокулировали подкожно с левого бока с применением 5 млн клеток MCF7 с Y537S в ESR1, полученных в виде 0,1 мл клеточной суспензии в 1:1 смеси RPMI (Gibco, Life Technologies) и матригеля (Coating). Когда опухоли достигали ~250 мм³, мышей в случайном порядке распределяли в группы по 9 мышей (12 мышей для контроля в виде среды-носителя) и начинали обрабатывать лекарственным средством. Соединения получали в среде-носителе (40% тетраэтиленгликоля (об./об.), 7,5% каптизола (вес./об.) в воде для инъекций) и давали перорально в объеме 10 мл/кг один раз в день в течение 22 дней в дозе от 0,5 до 50 мг/кг. Опухоли измеряли дважды в неделю и объем опухоли рассчитывали с применением формулы для тела с эллиптическим сечением ($\pi/6 \times \text{ширина} \times \text{ширина} \times \text{длина}$). Данные представляют собой среднее геометрическое объема опухоли относительно объема опухоли в день распределения в случайном порядке. Планки погрешностей представляют собой 95% доверительный интервал (Graphpad Prism). В данном исследовании продемонстрировано, что дозы, составляющие 10 мг/кг и выше, обеспечивали регрессию опухоли (фиг. 13).

Противоопухолевая эффективность у мыши в отношении ксенотрансплантата человека, представляющего собой CTC174, полученного от пациента с раком молочной железы и мутацией в ESR1.

Для определения эффекта примера 17 в отношении роста ксенотрансплантата, представляющего собой CTC174, полученного от пациента и мутацией в ESR1, самкам мышей NSG имплантировали фрагменты CTC174 в жировую ткань молочной железы. CTC174 получали из циркулирующих опухолевых клеток, выделенных у пациента с метастатическим раком молочной железы ER+, и показано, что они содержат мутацию D538G в ESR1 при частоте встречаемости аллеля 0,33 (Ladd, et al., *Oncotarget*, 2016, 7:54120-54136). Вкратце, самкам мышей NOD/SCID после овариэктомии (Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl/SzJ) (NSG) (в возрасте 6-7 недель - The Jackson Laboratory) под воздействием средства для возобновляемой анестезии имплантировали фрагмент ксенотрансплантата, представляющего собой CTC174, объемом ~50 мм³ в жировую ткань третьей молочной железы. Когда опухоли достигали ~200 мм³ мышей в случайном порядке распределяли в группы по 10 мышей и начинали обрабатывать лекарственным средством. Соединения получали в среде-носителе (40% тетраэтиленгликоля (об./об.), 7,5% каптизола (вес./об.) в воде для инъекций) и давали перорально в объеме 10 мл/кг один раз в день в течение 32 дней в дозе от 0,8 до 40 мг/кг. Опухоли измеряли дважды в неделю и объем опухоли рассчитывали с применением формулы для тела с эллиптическим сечением ($\pi/6 \times \text{ширина} \times \text{ширина} \times \text{длина}$). Данные представляют собой среднее геометрическое объема опухоли относительно объема опухоли в день распределения в случайном порядке. Планки погрешностей представляют собой 95% доверительный интервал (Graphpad Prism). В данном исследовании продемонстрировано, что дозы, составляющие 10 мг/кг и выше, обеспечивали практически полное подавление роста опухоли (фиг. 14).

Эффективность комбинации противоопухолевых лекарственных средств у мыши в отношении ксенотрансплантата человека, представляющего собой CTC174, полученного от пациента с раком молочной железы и мутацией в ESR1.

Для определения эффекта примера 17 в отношении роста ксенотрансплантата, представляющего собой CTC174, полученного от пациента с мутацией в ESR1, в комбинации с палбоциклибом, представляющим собой ингибитор CDK4/6, или вистусертибом, представляющим собой ингибитор mTORC1/2 (AZD2014), самкам мышей NSG имплантировали фрагменты CTC174 в жировую ткань молочной железы. CTC174 получали из циркулирующих опухолевых клеток, выделенных у пациента с метастатическим раком молочной железы ER+, и показано, что они содержат мутацию D538G в ESR1 при частоте встречаемости аллеля 0,33 (Ladd, et al., *Oncotarget*, 2016, 7:54120-54136). Вкратце, самкам мышей NOD/SCID (Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl/SzJ) (NSG) (в возрасте 6-7 недель - The Jackson Laboratory) под воздействием средства для возобновляемой анестезии имплантировали фрагмент ксенотрансплантата, представляющего собой CTC174, объемом ~30 мм³ в жировую ткань третьей молочной железы. Когда опухоли достигали ~500 мм³, мышей в случайном порядке распределяли в группы по 10 мышей и начинали обрабатывать лекарственным средством. Пример 17 получали в среде-носителе (40% тетраэтиленгликоля (об./об.), 7,5% каптизола (вес./об.) в воде для инъекций) и давали перорально в объеме 10 мл/кг один раз в день в течение 23 дней в дозе 10 мг/кг. Палбоциклиб и вистусертиб получали в среде-носителе (1% полисорбат 80). Палбоциклиб давали перорально в объеме 10 мл/кг один раз в день в течение 23 дней в дозе 50 мг/кг. Вистусертиб давали перорально в объеме 10 мл/кг дважды в день по графику 2 дня через 5 в течение 23 дней в дозе 10 мг/кг. Группе, обрабатываемой средой-носителем, перорально вводили дозу 10 мл/кг

40% тетраэтиленгликоля (об./об.), 7,5% каптизола (вес./об.) в воде для инъекций один раз в день в течение 23 дней. Опухоли измеряли дважды в неделю и объем опухоли рассчитывали с применением формулы для тела с эллиптическим сечением ($\pi/6 \times \text{ширина} \times \text{ширина} \times \text{длина}$). Данные представляют собой среднее геометрическое объема опухоли относительно объема опухоли в день распределения в случайном порядке. Планки погрешностей представляют собой 95% доверительный интервал (Graphpad Prism). В данном исследовании продемонстрировано, что пример 17 в комбинации либо с палбоциклибом (фиг. 15), либо с вистусертибом (AZD2014) (фиг. 16) обеспечивали больший эффект, чем любое из вводимых средств отдельно.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрена фармацевтическая композиция, которая содержит соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль, определенные выше в данном документе, в сочетании с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом.

Подходящие фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества для состава в виде таблетки включают, например, инертные разбавители, гранулирующие средства и разрыхлители, связывающие средства, смазывающие средства, консерванты и антиоксиданты. Дополнительное подходящее фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество может представлять собой хелатирующее средство. Составы в виде таблеток могут не быть покрытыми оболочкой или быть покрытыми оболочкой с целью модификации их распадаемости и последующего всасывания активного ингредиента в желудочно-кишечном тракте либо для улучшения их устойчивости и/или внешнего вида, в любом случае с использованием традиционных покрывающих средств и процедур, хорошо известных из уровня техники.

Композиции для перорального применения могут в качестве альтернативы быть представлены в форме твердых желатиновых капсул, в которых активный ингредиент смешан с инертным твердым разбавителем, или в форме мягких желатиновых капсул, в которых активный ингредиент смешан с водой или маслом.

Водные суспензии, как правило, содержат активный ингредиент в тонкоизмельченной форме вместе с одним или несколькими суспендирующими средствами, диспергирующими или смачивающими средствами. Водные суспензии также могут содержать один или несколько консервантов, антиоксидантов, красителей, ароматизаторов и/или подсластителей.

Масляные суспензии можно составлять путем суспендирования активного ингредиента в растительном масле или в минеральном масле. Масляные суспензии также могут содержать загуститель. Подсластители, такие как изложенные выше, и ароматизаторы можно добавлять для получения препарата для перорального введения с привлекательным вкусом. Такие композиции можно подвергнуть консервации путем добавления антиоксиданта.

Диспергируемые порошки и гранулы, подходящие для получения водной суспензии путем добавления воды, как правило, содержат активный ингредиент вместе с диспергирующим или смачивающим средством, суспендирующим средством и одним или несколькими консервантами. Также могут присутствовать дополнительные вспомогательные вещества, такие как подсластители, ароматизаторы и красители.

Фармацевтические композиции в соответствии с настоящим описанием также могут быть представлены в форме эмульсий типа масло-в-воде. Масляная фаза может представлять собой растительное масло или минеральное масло или смесь любого из них. Эмульсии могут также содержать подсластители, ароматизаторы и консерванты.

Сиропы и эликсиры могут быть составлены с подсластителями, а также могут содержать мягчительное средство, консервант, ароматизатор и/или краситель.

Фармацевтические композиции также могут быть представлены в форме стерильной инъекционной водной или масляной суспензии, которая может быть составлена в соответствии с известными процедурами с применением одного или нескольких соответствующих диспергирующих или смачивающих средств и суспендирующих средств, которые были упомянуты выше. Стерильный инъекционный препарат также может представлять собой стерильный инъекционный раствор или суспензию в нетоксичной приемлемой для парентерального введения системе разбавителей или растворителей.

Композиции, предназначенные для введения путем ингаляции, могут быть представлены в форме традиционного аэрозоля под давлением, предназначенного для распределения активного ингредиента в виде аэрозоля, содержащего мелкодисперсные твердые частицы или жидкие капли. Можно применять традиционные пропелленты для аэрозолей, такие как летучие фторированные углеводороды или углеводороды, и при этом аэрозольное устройство в целях удобства устроено таким образом, чтобы распределять отмеренное количество активного ингредиента. Также могут быть подходящими ингаляторы сухого порошка.

Для получения дополнительной информации о составлении читателю дается ссылка на главу 25.2 тома 5 *Comprehensive Medicinal Chemistry* (Corwin Hansch; председатель редакционного совета), Pergamon Press 1990.

Количество активного ингредиента, которое объединяют с одним или несколькими вспомогательными веществами для получения единичной лекарственной формы, будет неизбежно варьироваться в

зависимости от подвергаемого лечению реципиента и конкретного пути введения. Например, для перорального введения людям, как правило, будет требоваться введение, например, от 1 мг до 2 г активного средства (в более подходящем случае от 100 мг до 2 г, например, от 250 мг до 1,8 г, как, например, от 500 мг до 1,8 г, в частности от 500 мг до 1,5 г, в целях удобства от 500 мг до 1 г), составленного в виде смеси с соответствующим и надлежащим количеством вспомогательных веществ, которое может варьироваться от приблизительно 3 до приблизительно 98% по весу от общего количества композиции. Следует понимать, что, в случае если требуется большая доза, могут потребоваться несколько лекарственных форм, например две или более таблетки или капсулы, с распределенной между ними в целях удобства дозой активного ингредиента. Как правило, стандартные лекарственные формы будут содержать от приблизительно 10 мг до 0,5 г соединения в соответствии с настоящим описанием, хотя стандартная лекарственная форма может содержать до 1 г. В целях удобства единичная твердая лекарственная форма может содержать от 1 до 300 мг активного ингредиента.

Размер дозы соединений в соответствии с настоящим описанием для терапевтических или профилактических целей будет, естественно, варьироваться в соответствии с природой и тяжестью состояния заболевания, возрастом и полом животного или пациента и путем введения, в соответствии с широко известными принципами медицины.

При использовании соединений в соответствии с настоящим описанием для терапевтических или профилактических целей их обычно вводят так, чтобы суточная доза находилась в диапазоне, например, от 1 до 100 мг/кг веса тела, при необходимости, в виде разделенных доз. Как правило, при использовании парентерального пути будут вводить более низкие дозы. Таким образом, например, для внутривенного введения, как правило, будут применять дозу в диапазоне, например, от 1 до 25 мг/кг веса тела. Аналогично, для введения путем ингаляции будут применять дозу в диапазоне, например, от 1 до 25 мг/кг веса тела. Тем не менее, предпочтительным является пероральное введение, в частности, в форме таблеток.

В одном аспекте настоящего описания соединения в соответствии с настоящим описанием или их фармацевтически приемлемые соли вводятся в виде таблеток, содержащих от 10 до 100 мг соединения в соответствии с настоящим описанием (или его фармацевтически приемлемой соли), где для достижения необходимой дозы, в зависимости от необходимости, вводят одну или несколько таблеток.

Как указано выше, известно, что передача сигнала с помощью ER α вызывает опухолообразование посредством одного или нескольких из эффектов опосредования пролиферации раковых и других клеток, опосредования событий ангиогенеза и опосредования подвижности, миграции и инвазивности раковых клеток. Авторы настоящего изобретения обнаружили, что соединения в соответствии с настоящим описанием обладают сильной противоопухолевой активностью, которая, как полагают, достигается посредством антагонистического воздействия и супрессии в отношении ER α , который вовлечен в этапы передачи сигнала, которые обуславливают пролиферацию и выживание опухолевых клеток, а также инвазивность и способность к миграции у метастазирующих опухолевых клеток.

Соответственно, соединения в соответствии с настоящим описанием могут иметь ценность в качестве противоопухолевых средств, в частности в качестве избирательных ингибиторов пролиферации, выживания, подвижности, диссеминации и инвазивности раковых клеток млекопитающих, приводя к подавлению роста и выживанию опухолей и к подавлению роста метастатических опухолей. В частности, соединения в соответствии с настоящим описанием могут иметь ценность в качестве антипролиферативных и антиинвазивных средств при сдерживании распространения и/или лечения заболевания, характеризующегося наличием солидной опухоли. В частности, соединения в соответствии с настоящим описанием могут быть применимыми в предупреждении или лечении тех опухолей, которые являются чувствительными к подавлению функции ER α , которые при этом вовлечены в этапы передачи сигнала, обуславливающие пролиферацию и выживание опухолевых клеток, а также способность к миграции и инвазивность у метастазирующих опухолевых клеток. Кроме того, соединения в соответствии с настоящим описанием могут быть применимыми в предупреждении или лечении тех опухолей, для которых это опосредовано исключительно или частично антагонистическим воздействием и супрессией в отношении ER α , т.е. соединения можно применять для получения ингибирующего эффекта в отношении ER α у теплокровного животного, нуждающегося в таком лечении.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль, определенные выше в данном документе, для применения в качестве лекарственного препарата у теплокровного животного, такого как человек.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль, определенные выше в данном документе, для применения в получении антипролиферативного эффекта у теплокровного животного, такого как человек.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль, определенные выше в данном документе, для применения у теплокровного животного, такого как человек, в качестве антиинвазивного средства при сдерживании распространения и/или лечении заболевания, характеризующегося наличием солидной опухоли.

ность и способность к миграции опухолевых клеток, который включает введение указанному животному эффективного количества соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, определенных выше в данном документе.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль, определенных выше в данном документе, для применения в обеспечении ингибирующего эффекта в отношении ER α .

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрено применение соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, определенных выше в данном документе, в изготовлении лекарственного препарата для применения в обеспечении ингибирующего эффекта в отношении ER α .

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания также предусмотрен способ обеспечения ингибирующего эффекта в отношении ER α , который включает введение эффективного количества соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, определенных выше в данном документе.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль, определенных выше в данном документе, для применения в обеспечении селективного ингибирующего эффекта в отношении ER α .

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрено применение соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, определенных выше в данном документе, в изготовлении лекарственного препарата для применения в обеспечении селективного ингибирующего эффекта в отношении ER α .

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания также предусмотрен способ обеспечения селективного ингибирующего эффекта в отношении ER α , который включает введение эффективного количества соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, определенных выше в данном документе.

В данном документе описаны соединения, которые могут связываться с лигандсвязывающим доменом ER α и являются селективными разрушителями рецептора эстрогена. В биохимических и клеточных анализах показано, что соединения в соответствии с настоящим описанием являются активными в отношении связывания рецепторов эстрогена и снижают клеточные уровни ER α , а также, следовательно, могут быть применимыми в лечении эстроген-чувствительных заболеваний или состояний (в том числе заболеваний, характеризующихся возникновением устойчивости к препаратам эндокринной терапии), т.е. для применения в лечении рака молочной железы и видов гинекологического рака (в том числе эндометрия, яичников и шейки матки) и видов рака, экспрессирующих белки ER α с мутациями, которые могут представлять собой мутации *de novo* или такие, которые возникли в результате лечения с помощью более раннего препарата эндокринной терапии, такого как ингибитор ароматазы.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль, определенных выше в данном документе, для применения в лечении рака молочной железы или видов гинекологического рака.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль, определенных выше в данном документе, для применения в лечении рака молочной железы, эндометрия, яичников или шейки матки.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль, определенных выше в данном документе, для применения в лечении рака молочной железы.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль, определенных выше в данном документе, для применения в лечении рака молочной железы, где у раковых клеток развилась устойчивость к одному или нескольким другим препаратам эндокринной терапии.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрен способ лечения рака молочной железы или видов гинекологического рака, который включает введение эффективного количества соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, определенных выше в данном документе.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрен способ лечения рака молочной железы, эндометрия, яичников или шейки матки, который включает введение эффективного количества соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, определенных выше в данном документе.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрен способ лечения рака молочной железы, который включает введение эффективного количества соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, определенных выше в данном документе.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрен способ лечения рака молочной железы, где у раковых клеток развилась устойчивость к одному или нескольким другим

препаратам эндокринной терапии, который включает введение эффективного количества соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, определенных выше в данном документе.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрено применение соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, определенных выше в данном документе, в изготовлении лекарственного препарата для применения в лечении рака молочной железы или видов гинекологического рака.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрено применение соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, определенных выше в данном документе, в изготовлении лекарственного препарата для применения в лечении рака молочной железы, эндометрия, яичников или шейки матки.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрено применение соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, определенных выше в данном документе, в изготовлении лекарственного препарата для применения в лечении рака молочной железы.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрено применение соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, определенных выше в данном документе, в изготовлении лекарственного препарата для применения в лечении рака молочной железы, где у раковых клеток развилась устойчивость к одному или нескольким другим препаратам эндокринной терапии.

В одном признаке настоящего описания подлежащий лечению рак представляет собой рак молочной железы. В дополнительном аспекте данного признака рак молочной железы является эстроген-рецептор-положительным (ER-положительным). В одном варианте осуществления данного аспекта соединение формулы (ID) вводят вместе с другим противораковым средством, таким как противогормональное средство, определенное в данном документе.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль, определенные выше в данном документе, для применения в лечении ER-положительного рака молочной железы.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрен способ лечения ER-положительного рака молочной железы, который включает введение эффективного количества соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, определенных выше в данном документе.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрено применение соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, которые определены выше в данном документе, в изготовлении лекарственного препарата для применения в лечении ER-положительного рака молочной железы.

Как указано выше в данном документе, эффекты *in vivo* соединения формулы (ID) частично могут проявляться благодаря одному или нескольким метаболитам, которые образуются в организме человека или животного после введения соединения формулы (ID).

В настоящем описании, следовательно, также рассматривается способ подавления функции ER- α у пациента, включающий введение пациенту количества соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, эффективного в отношении подавления функции ER- α у пациента.

В настоящем описании, следовательно, также рассматривается способ подавления функции ER- α у пациента, включающий введение пациенту количества соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли, эффективного в отношении подавления функции ER- α у пациента.

Противораковое лечение, определенное в данном документе, может применяться в качестве монотерапии или может включать, в дополнение к применению соединений в соответствии с настоящим описанием, традиционное хирургическое вмешательство, или лучевую терапию, или химиотерапию. Такая химиотерапия может предусматривать применение одной или нескольких из следующих категорий противоопухолевых средств:

(i) другие антипролиферативные/антинеопластические лекарственные средства и их комбинации, применяемые в медицинской онкологии, такие как алкилирующие средства (например, цисплатин, оксалиплатин, карбоплатин, циклофосфамид, хлорметин, мелфалан, хлорамбуцил, бусульфан, темозоломид и нитрозомочевина); антиметаболиты (например, гемцитабин и антифолаты, такие как фторпиримидины, как, например, 5-фторурацил и тегафур, ралтитрексед, метотрексат, цитозин-арабинозид и гидроксимочевина); противоопухолевые антибиотики (например, антрациклины, такие как адриамицин, блеомицин, доксорубицин, дауномицин, эпирубицин, идарубицин, митомицин-С, дактиномицин и митрамицин); антимитотические средства (например, алкалоиды барвинка, как, например, винкристин, винбластин, виндезин и винорелбин, а также таксоиды, такие как таксол и таксотер, и ингибиторы polo-киназы) и ингибиторы топоизомеразы (например, эпиподифиллотоксины, такие как этопозид и тенипозид, амсакрин, топотекан и камптотексин);

(ii) противогормональные средства, такие как антиэстрогены (например, тамоксифен, фульвестрант, торемифен, ралоксифен, дролоксифен и йодоксифен), прогестогены (например, мегестрол ацетат), инги-

биторы ароматазы (например, такие как анастрозол, летрозол, воразол и эксеместан);

(iii) ингибиторы функции факторов роста и их нисходящих путей передачи сигнала: включены Ab-модуляторы любых мишеней, представляющих собой факторы роста или рецепторы факторов роста, рассмотренные Stern et al. *Critical Reviews in Oncology/Haematology*, 2005, 54, p. 11-29); также включены низкомолекулярные ингибиторы таких мишеней, например ингибиторы киназ - примеры включают трастузумаб, представляющий собой антитело к erbB2 [Herceptin™], панитумумаб, представляющий собой антитело к EGFR, цетуксимаб, представляющий собой антитело к EGFR [эрбитукс, C225], и ингибиторы тирозинкиназ, в том числе ингибиторы рецепторов семейства erbB, такие как ингибиторы тирозинкиназ, относящихся к семейству рецепторов эпидермального фактора роста (EGFR/erbB1), такие как gefитиниб или эрлотиниб, ингибиторы тирозинкиназы erbB2, такие как лапатиниб, и смешанные ингибиторы erb1/2, такие как афатиниб; подобные стратегии доступны для других классов факторов роста и их рецепторов, например ингибиторов семейства факторов роста гепатоцитов или их рецепторов, в том числе c-met и hgp; ингибиторы инсулина и семейства инсулиновых факторов роста или их рецепторов (IGFR, IR), ингибиторы семейства факторов роста тромбоцитов или их рецепторов (PDGFR) и ингибиторы передачи сигнала, опосредованной другими рецепторными тирозинкиназами, такими как c-kit, AnLK и CSF-1R; также включены модуляторы, мишенью которых являются сигнальные белки в пути передачи сигнала PI3-киназы, например ингибиторы изоформ PI3-киназы, таких как PI3K- $\alpha/\beta/\gamma$ и ser/thr-киназ, таких как AKT, mTOR (такой как AZD2014), PDK, SGK, PI4K или PIP5K; также включены ингибиторы серин-треониновых киназ, не перечисленных выше, например ингибиторы raf, такие как вемурафениб, ингибиторы MEK, такие как селуметиниб (AZD6244), ингибиторы Abl, такие как иматиниб или нилотиниб, ингибиторы Btk, такие как ибрутиниб, ингибиторы Syk, такие как фостаматиниб, ингибиторы аврора-киназы (например, AZD1152), ингибиторы других ser/thr-киназ, таких как разновидности JAK, разновидности STAT и IRAK4, и ингибиторы циклинзависимых киназ, например ингибиторы CDK1, CDK7, CDK9 и CDK4/6, такие как палбоциклиб;

iv) модуляторы сигнальных путей ответа на повреждение ДНК, например ингибиторы PARP (например, олапариб), ингибиторы ATR или ингибиторы ATM;

v) модуляторы сигнальных путей апоптоза и гибели клеток, такие как модуляторы семейства Bcl (например, ABT-263/навитоклакс, ABT-199);

(vi) антиангиогенные средства, такие как средства, ингибирующие эффекты фактора роста эндотелия сосудов [например, бевацизумаб, представляющий собой антитело к фактору роста клеток эндотелия сосудов (Avastin™), и, например, ингибитор тирозинкиназы рецептора VEGF, такой как сорафениб, акситиниб, пазопаниб, сунитиниб и вандетаниб, а также соединения, воздействующие посредством других механизмов (например, линомид, ингибиторы функции интегрина $\alpha v \beta 3$ и ангиостатин)];

(vii) средства, повреждающие сосуды, такие как комбретагестатин A4;

(viii) антиинвазивные средства, например ингибиторы киназ семейства c-Src, такие как дазатиниб (*J. Med. Chem.*, 2004, 47, 6658-6661) и босутиниб (SKI-606), а также ингибиторы металлопротеиназ, такие как маримастат, ингибиторы функции рецепторов активатора плазминогена урокиназного типа или антитела к гепараназе;

(ix) иммунотерапевтические подходы, в том числе, например, ex vivo и in vivo подходы к повышению иммуногенности опухолевых клеток пациента, такие как трансфекция цитокинами, такими как интерлейкин-2, интерлейкин-4 или гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, подходы для уменьшения Т-клеточной толерантности, подходы с использованием трансфицированных иммунных клеток, таких как цитокин-трансфицированные дендритные клетки, подходы с использованием цитокин-трансфицированных опухолевых клеточных линий и подходы с использованием антиидиотипических антител. Конкретные примеры включают моноклональные антитела, мишенью которых являются PD-1 (например, BMS-936558) или CTLA4 (например, ипилимумаб и тремелимуаb);

(x) виды антисмысловой или основанной на RNAi терапии, например, направленные на перечисленные мишени;

(xi) подходы генной терапии, в том числе, например, подходы к замене аберрантных генов, таких как аберрантный p53 или аберрантные BRCA1 или BRCA2, подходы GDEPT (геноопосредованной ферментативной пролекарственной терапии), такие как подходы с использованием цитозиндезаминазы, тимидинкиназы или бактериального фермента нитроредуктазы, и подходы к повышению переносимости пациентом химиотерапии или лучевой терапии, такие как генная терапия множественной лекарственной устойчивости.

Соответственно, в одном варианте осуществления предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль и дополнительное противоопухолевое вещество для совместного лечения рака.

В соответствии с данным аспектом настоящего описания предусмотрена комбинация, подходящая для применения в лечении рака, содержащая соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль и другое противоопухолевое средство, в частности любое из противоопухолевых средств, перечисленных в пунктах (i)-(xi) выше. В частности, применение противоопухолевых средств, перечис-

ленных в пунктах (i)-(xi) выше, представляет собой стандарт оказания медицинской помощи при конкретном виде рака, подлежащего лечению; специалисту в данной области будет понятно значение термина "стандарт оказания медицинской помощи".

Следовательно, в дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль в комбинации с другим противоопухолевым средством, в частности противоопухолевым средством, выбранным из средств, перечисленных в пунктах (i)-(xi) выше в данном документе.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль в комбинации с другим противоопухолевым средством, в частности противоопухолевым средством, выбранным из средств, перечисленных в пункте (i) выше.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль и любое из противоопухолевых средств, перечисленных в пункте (i) выше.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрена комбинация, подходящая для применения в лечении рака, содержащая соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль и таксоид, такой как, например, таксол или таксотер, преимущественно таксотер.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль в комбинации с другим противоопухолевым средством, в частности противоопухолевым средством, выбранным из перечисленных в пункте (ii) выше в данном документе.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрена комбинация, подходящая для применения в лечении рака, содержащая соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль и любое средство из противогормональных средств, перечисленных в пункте (ii) выше, например любой из антиэстрогенов, перечисленных в пункте (ii) выше, или, например, из ингибиторов ароматазы, перечисленных в пункте (ii) выше.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрена комбинация, подходящая для применения в лечении рака, содержащая соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор mTOR, такой как AZD2014.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрена комбинация, подходящая для применения в лечении рака, содержащая соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль и PI3K α -ингибитор, такой как соединение 1-(4-(5-(5-амино-6-(5-трет-бутил-1,3,4-оксадиазол-2-ил)пирозин-2-ил)-1-этил-1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиперидин-1-ил)-3-гидроксипропан-1-он, или его фармацевтически приемлемую соль.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрена комбинация, подходящая для применения в лечении рака, содержащая соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK4/6, такой как палбоциклиб.

В одном аспекте вышеуказанная комбинация соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли с противоопухолевым средством, перечисленным в пункте (ii) выше, или ингибитором mTOR (таким как AZD2014), или ингибитором PI3K α (таким как соединение 1-(4-(5-(5-амино-6-(5-трет-бутил-1,3,4-оксадиазол-2-ил)пирозин-2-ил)-1-этил-1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиперидин-1-ил)-3-гидроксипропан-1-он), или ингибитором CDK4/6 (таким как палбоциклиб) является подходящей для применения в лечении рака молочной железы или видов гинекологического рака, таких как рак молочной железы, эндометрия, яичников или шейки матки, в частности рак молочной железы, такой как ER-положительный рак молочной железы.

В тех случаях, когда в данном документе используют термин "комбинация", его следует понимать как относящийся к одновременному, раздельному или последовательному введению. В одном аспекте настоящего описания "комбинация" относится к одновременному введению. В другом аспекте настоящего описания "комбинация" относится к раздельному введению. В дополнительном аспекте настоящего описания "комбинация" относится к последовательному введению. Если введение является последовательным или раздельным, то задержка во введении второго компонента не должна быть такой, чтобы был потерян полезный эффект комбинации. Если комбинацию двух или более компонентов вводят по отдельности или последовательно, будет понятно, что режим дозирования для каждого компонента может отличаться от режимов дозирования других компонентов и не зависит от них. В целях удобства соединения в соответствии с настоящим описанием вводят в виде дозы один раз в день.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрена фармацевтическая композиция, которая содержит соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль в комбинации с противоопухолевым средством, выбранным из средств, перечисленных в пунктах (i)-(xi) выше в данном документе, в сочетании с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрена фармацевтическая композиция, которая содержит соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль в комбинации с любым из противогормональных средств, перечисленных в пункте (ii) выше, на-

пример любым из антиэстрогенов, перечисленных в пункте (ii) выше, или, например, из ингибиторов ароматазы, перечисленных в пункте (ii) выше, в сочетании с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор mTOR, такой как AZD2014, в сочетании с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль и PI3K α -ингибитор, такой как соединение 1-(4-(5-(5-амино-6-(5-трет-бутил-1,3,4-оксадиазол-2-ил)пиразин-2-ил)-1-этил-1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиперидин-1-ил)-3-гидроксипропан-1-он, в сочетании с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK4/6 (такой как палбоциклиб) в сочетании с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрена фармацевтическая композиция, которая содержит соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль в комбинации с противоопухолевым средством, выбранным из средств, перечисленных в пунктах (i)-(xi) выше в данном документе, в сочетании с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом, предназначенная для применения в лечении рака.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрена фармацевтическая композиция, которая содержит соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль в комбинации с любым из противогормональных средств, перечисленных в пункте (ii) выше, например любым из антиэстрогенов, перечисленных в пункте (ii) выше, или, например, из ингибиторов ароматазы, перечисленных в пункте (ii) выше, в сочетании с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом, предназначенная для применения в лечении рака.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор mTOR, такой как AZD2014, в сочетании с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом, предназначенная для применения в лечении рака.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль и PI3K α -ингибитор, такой как соединение 1-(4-(5-(5-амино-6-(5-трет-бутил-1,3,4-оксадиазол-2-ил)пиразин-2-ил)-1-этил-1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиперидин-1-ил)-3-гидроксипропан-1-он, в сочетании с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом, предназначенная для применения в лечении рака.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK4/6 (такой как палбоциклиб) в сочетании с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом, предназначенная для применения в лечении рака.

В одном аспекте вышеуказанные фармацевтические композиции на основе соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли с противоопухолевым средством, перечисленным в пункте (ii) выше, или ингибитором mTOR (таким как AZD2014), или ингибитором PI3K- α (таким как соединение 1-(4-(5-(5-амино-6-(5-трет-бутил-1,3,4-оксадиазол-2-ил)пиразин-2-ил)-1-этил-1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиперидин-1-ил)-3-гидроксипропан-1-он), или ингибитором CDK4/6 (таким как палбоциклиб) являются подходящими для применения в лечении рака молочной железы или видов гинекологического рака, таких как рак молочной железы, эндометрия, яичников или шейки матки, в частности рак молочной железы, такой как ER-положительный рак молочной железы.

В соответствии с другим признаком настоящего описания предусмотрено применение соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с противоопухолевым средством, выбранным из средств, перечисленных в пунктах (i)-(xi) выше в данном документе, в изготовлении лекарственного препарата, предназначенного для применения в лечении рака у теплокровного животного, такого как человек.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрено применение соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с любым из противогормональных средств, перечисленных в пункте (ii) выше, например любым из антиэстрогенов, перечисленных в пункте (ii) выше, или, например, из ингибиторов ароматазы, перечисленных в пункте (ii) выше, в изготовлении лекарственного препарата, предназначенного для применения в лечении рака у теплокровного животного, такого как человек.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрено применение соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с ингибитором mTOR, таким как AZD2014, в изготовлении лекарственного препарата, предназначенного для применения в лечении рака у теплокровного животного, такого как человек.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрено применение соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с PI3K α -ингибитором, таким как соединение 1-(4-(5-(5-амино-6-(5-трет-бутил-1,3,4-оксадиазол-2-ил)пиразин-2-ил)-1-этил-1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиперидин-1-ил)-3-гидроксипропан-1-он, в изготовлении лекарственного препарата, предназначенного для применения в лечении рака у теплокровного животного, такого как человек.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрено применение соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с ингибитором CDK4/6 (таким как палбоциклиб) в изготовлении лекарственного препарата, предназначенного для применения в лечении рака у теплокровного животного, такого как человек.

В одном аспекте вышеуказанные варианты применения соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с противоопухолевым средством, перечисленным в пункте (ii) выше, или ингибитором mTOR (таким как AZD2014), или ингибитором PI3K α (таким как соединение 1-(4-(5-(5-амино-6-(5-трет-бутил-1,3,4-оксадиазол-2-ил)пиразин-2-ил)-1-этил-1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиперидин-1-ил)-3-гидроксипропан-1-он), или ингибитором CDK4/6 (таким как палбоциклиб) являются подходящими для применения в изготовлении лекарственного препарата, предназначенного для лечения рака молочной железы или видов гинекологического рака, таких как рак молочной железы, эндометрия, яичников или шейки матки, в частности рака молочной железы, такого как ER-положительный рак молочной железы.

Следовательно, в дополнительном признаке настоящего описания предусмотрен способ лечения рака у теплокровного животного, такого как человек, нуждающегося в таком лечении, который включает введение указанному животному эффективного количества соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с противоопухолевым средством, выбранным из средств, перечисленных в пунктах (i)-(xi) выше в данном документе.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрен способ лечения рака у теплокровного животного, такого как человек, нуждающегося в таком лечении, который включает введение указанному животному эффективного количества соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с любым из противогормональных средств, перечисленных в пункте (ii) выше, например любым из антиэстрогенов, перечисленных в пункте (ii) выше, или, например, из ингибиторов ароматазы, перечисленных в пункте (ii) выше.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрен способ лечения рака у теплокровного животного, такого как человек, нуждающегося в таком лечении, который включает введение указанному животному эффективного количества соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с ингибитором mTOR, таким как AZD2014.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрен способ лечения рака у теплокровного животного, такого как человек, нуждающегося в таком лечении, который включает введение указанному животному эффективного количества соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с PI3K α -ингибитором, таким как соединение 1-(4-(5-(5-амино-6-(5-трет-бутил-1,3,4-оксадиазол-2-ил)пиразин-2-ил)-1-этил-1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиперидин-1-ил)-3-гидроксипропан-1-он.

В дополнительном аспекте настоящего описания предусмотрен способ лечения рака у теплокровного животного, такого как человек, нуждающегося в таком лечении, который включает введение указанному животному эффективного количества соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с ингибитором CDK4/6 (таким как палбоциклиб).

В одном аспекте вышеуказанные комбинации, фармацевтические композиции, варианты применения и способы лечения рака представляют собой способы лечения рака молочной железы или видов гинекологического рака, таких как рак молочной железы, эндометрия, яичников или шейки матки, в частности рака молочной железы, такого как ER-положительный рак молочной железы.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрен набор, содержащий соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль в комбинации с противоопухолевым средством, выбранным из средств, перечисленных в пунктах (i)-(xi) выше в данном документе.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрен набор, содержащий соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль в комбинации с противоопухолевым средством, выбранным из средств, перечисленных в пунктах (i) или (ii) выше в данном документе.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрен набор, содержащий:

- a) соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль в виде первой стандартной лекарственной формы;
- b) противоопухолевое средство, выбранное из средств, перечисленных в пунктах (i)-(xi) выше в данном документе, в виде второй стандартной лекарственной формы и
- c) средство-контейнер для вмещения указанных первой и второй лекарственных форм.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрен набор, содержащий:

а) соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль в виде первой стандартной лекарственной формы;

б) противоопухолевое средство, выбранное из средств, перечисленных в пунктах (i)-(ii) выше в данном документе, в виде второй стандартной лекарственной формы;

с) средство-контейнер для вмещения указанных первой и второй лекарственных форм.

В соответствии с дополнительным аспектом настоящего описания предусмотрен набор, содержащий:

а) соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемую соль в виде первой стандартной лекарственной формы;

б) противоопухолевое средство, выбранное из противоопухолевых средств, перечисленных в пункте (ii) выше, ингибитор mTOR (такой как AZD2014), PI3K α -ингибитор, такой как соединение 1-(4-(5-(5-амино-6-(5-трет-бутил-1,3,4-оксадиазол-2-ил)пиразин-2-ил)-1-этил-1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиперидин-1-ил)-3-гидроксипропан-1-он, и ингибитор CDK4/6, такой как палбоциклиб, в виде второй стандартной лекарственной формы;

с) средство-контейнер для вмещения указанных первой и второй лекарственных форм.

Комбинированную терапию, описанную выше, можно проводить вдобавок к стандартному лечению, как правило, осуществляемому в соответствии с его обычным графиком назначения.

Хотя соединения формулы (ID) в основном представляют ценность в качестве терапевтических средств для применения у теплокровных животных (в том числе у человека), они также применимы во всех случаях, когда необходимо подавлять функцию ER α . Таким образом, они являются применимыми в качестве фармакологических стандартов для применения в разработке новых биологических тестов и в поиске новых фармакологических средств.

Персонализированное оказание медицинской помощи.

Другой аспект настоящего описания основан на идентификации связи между статусом гена, кодирующего ER α , и потенциальной восприимчивостью к лечению соединением формулы (ID). В частности, статус гена ER α может указывать на то, что у пациента с меньшей вероятностью будет возникать ответ на существующую гормональную терапию (такую как ингибиторы ароматазы), по меньшей мере частично, потому что некоторые мутации ER α , как полагают, возникают в качестве механизмов устойчивости к существующим видам лечения. SERD, в частности SERD, который можно вводить перорально в потенциально больших дозах без излишнего неудобства, можно, следовательно, преимущественно применять для лечения пациентов с мутациями ER α , которые могут быть устойчивы к другим видам терапии. Таким образом, это обеспечивает возможности, способы и инструменты для отбора пациентов для лечения соединением формулы (ID), в частности, пациентов, больных раком. Настоящее описание относится к инструментам и способам отбора пациентов (в том числе к персонализированной медицине). Отбор основан на том, содержат ли клетки опухоли, подлежащие обработке, ген ER α дикого типа или мутантный. Статус гена ER α можно, следовательно, применять в качестве биомаркера для индикации того, что выбор лечения с помощью SERD может быть целесообразным. Во избежание неоднозначности толкования, считается, что соединения формулы (ID), описанные в данном документе, характеризуются аналогичной активностью в отношении гена ER α дикого типа и мутантного гена ER α , по меньшей мере гена ER α с мутациями, идентифицированными на дату подачи данной заявки.

Существует явная потребность в биомаркерах, которые позволят расширить категорию или отобрать пациентов, опухоли которых будут отвечать на лечение с помощью SERD, таким как соединение формулы (ID). Биомаркеры для отбора пациентов, которые позволяют идентифицировать пациентов, с наибольшей долей вероятности отвечающих на одно средство по сравнению с другими, являются идеальными для лечения рака, поскольку они позволяют снижать частоту случаев ненужного лечения пациентов с нечувствительными опухолями и потенциальных побочных эффектов таких средств.

Биомаркер можно описать как "характеристический параметр, который можно объективно измерить и оценить в качестве показателя нормальных биологических процессов, патогенных процессов или фармакологических ответов на терапевтическое вмешательство". Биомаркер представляет собой любой идентифицируемый и поддающийся измерению показатель, связанный с конкретным состоянием или заболеванием, для которого наблюдается корреляция между наличием или уровнем биомаркера и некоторым аспектом состояния или заболевания (в том числе наличием, уровнем или изменением уровня, типом, стадией состояния или заболевания, предрасположенностью к нему или способностью отвечать на лекарственное средство, применяемое для лечения состояния или заболевания). Корреляция может быть качественной, количественной или как качественной, так и количественной. Обычно биомаркер представляет собой соединение, фрагмент соединения или группу соединений. Такие соединения могут представлять собой любые соединения, обнаруживаемые или вырабатываемые в организме, в том числе белки (и пептиды), нуклеиновые кислоты и другие соединения.

Биомаркеры могут иметь прогностический потенциал и в этом качестве могут применяться для

прогнозирования или определения наличия, уровня, типа или стадии конкретных состояний или заболеваний (в том числе наличия или уровня конкретных микроорганизмов или токсинов), предрасположенности (в том числе генетической предрасположенности) к конкретным состояниям или заболеваниям или ответа на конкретные виды лечения (в том числе виды лекарственного лечения). Считается, что биомаркеры будут играть все более важную роль в будущем изыскании и разработке лекарственных средств благодаря улучшению эффективности программ исследований и разработок. Биомаркеры могут использоваться в качестве средств диагностики, индикаторов прогрессирования заболевания, индикаторов лечения и прогностических факторов клинического исхода. Например, в различных проектах исследования биомаркеров предпринимаются усилия по идентификации маркеров определенных видов рака и определенных сердечно-сосудистых и иммунологических заболеваний. Считается, что разработка новых валидированных биомаркеров приведет как к значительному снижению затрат на оказание медицинской помощи и разработку лекарственных средств, так и к значительному улучшению лечения широкого спектра заболеваний и состояний.

Для оптимального планирования клинических испытаний и получения наиболее полной информации от этих испытаний может потребоваться биомаркер. Маркер может поддаваться измерению в тканях-имитаторах и опухолевых тканях. В идеальном случае эти маркеры также будут коррелировать с эффективностью и, таким образом, в конечном счете их можно использовать для отбора пациентов.

Таким образом, техническая задача, лежащая в основе данного аспекта настоящего описания, заключается в определении способа стратификации пациентов по лечению соединением формулы (ID). Данная техническая задача решается путем предусмотрения вариантов осуществления, описанных в данном документе в формуле изобретения и/или в описании.

Считается, что опухоли, которые содержат ER α дикого типа, являются восприимчивыми к лечению соединением формулы (ID), например, в качестве первоочередного лечения. Опухоли могут также отвечать на лечение соединением формулы (ID) в качестве терапии второй линии, третьей линии или последующей терапии, и это можно применять, в частности, если опухоли содержат мутантный ER α и могут, таким образом, быть устойчивыми к существующим видам терапии, таким как AI. В случае лечения опухолей с резистентностью может требоваться более высокая доза соединения формулы (ID), чем при опухолях, экспрессирующих рецептор дикого типа.

В настоящем описании предусмотрен способ определения чувствительности клеток к соединению формулы (ID). Данный способ включает определение статуса гена ER α в указанных клетках. Клетку определяют как чувствительную к соединению формулы (ID), если оно ингибирует увеличение числа клеток в анализе роста клеток (посредством ингибирования пролиферации клеток и/или посредством увеличения степени гибели клеток). Способы в соответствии с настоящим описанием являются применимыми для прогнозирования того, какие клетки с большей долей вероятности будут отвечать на соединение формулы (ID) путем ингибирования роста.

Образец, "характеризующий опухоль", может представлять собой фактический выделенный образец опухоли или может представлять собой образец, который был подвергнут дополнительной обработке, например, образец подвергнутой ПЦР-амплификации нуклеиновой кислоты из образца опухоли.

Определения.

В данном разделе "Персонализированное оказание медицинской помощи" принято следующее.

"Аллель" относится к определенной форме генетического локуса, отличающейся от других форм своей конкретной нуклеотидной или аминокислотной последовательностью.

"Реакции амплификации" представляют собой реакции нуклеиновых кислот, которые приводят к специфичной амплификации нуклеиновых кислот-мишеней среди нуклеиновых кислот, не являющихся мишенями. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) является хорошо известной реакцией амплификации.

Как используется в данном документе, "рак" относится к неопластическому росту в результате трансформации клеток в неопластический фенотип. В такую трансформацию клеток часто вовлечена генетическая мутация.

"Ген" представляет собой сегмент ДНК, который содержит всю информацию, необходимую для регулируемого биосинтеза РНК-продукта, в том числе промотор, экзоны, интроны и другие элементы последовательности, управляющие экспрессией, которые могут быть расположены в пределах 5'- или 3'-фланкирующих участков (но не в транскрибируемых частях гена).

"Статус гена" относится к тому, является ли ген геном дикого типа или нет (т.е. мутантным).

"Метка" относится к композиции, способной производить выявляемый сигнал, указывающий на наличие полинуклеотида-мишени в анализируемом образце. Подходящие метки включают в себя радиоактивные изотопы, хромофоры нуклеотидов, ферменты, субстраты, флуоресцентные молекулы, хемилюминесцентные фрагменты, магнитные частицы, биолюминесцентные фрагменты и т.п. Таким образом, меткой является любая композиция, выявляемая спектроскопическими, фотохимическими, биохимическими, иммунохимическими, электрическими, оптическими или химическими способами.

"Несинонимичное изменение" относится к изменению (вариации) в кодирующей последовательности гена или перекрывающемся с ней участке, которые приводят к получению отличающейся (изменен-

ной) полипептидной последовательности. Эти изменения могут влиять на функцию белка или не влиять на нее и охватывают миссенс-варианты (где в результате происходит замена одной аминокислоты на другую), нонсенс-варианты (где в результате происходит усечение полипептида вследствие образования преждевременного стоп-кодона) и инсерционно-делеционные варианты.

"Синонимичное изменение" относится к изменению (вариации) в кодирующей последовательности гена, которые не влияют на последовательность кодируемого полипептида. Эти изменения могут опосредованно влиять на функцию белка (например, путем изменения экспрессии гена), но в отсутствие свидетельств противоположного, как правило, считаются безвредными.

"Нуклеиновая кислота" относится к одонитевым или двухнитевым молекулам ДНК и РНК, в том числе к природным нуклеиновым кислотам, обнаруживаемым в природе, и/или модифицированным искусственным нуклеиновым кислотам, имеющим модифицированные остовы или нуклеиновые основания, как известно из уровня техники.

"Праймер" относится к олигонуклеотидной последовательности одонитевой ДНК, способной действовать в качестве точки инициации для синтеза продукта удлинения праймера, который комплементарен нити нуклеиновой кислоты, подлежащей копированию. Длина и последовательность праймера должны быть таковы, чтобы он мог праймировать синтез продуктов удлинения. Типичный праймер имеет длину по меньшей мере примерно 7 нуклеотидов и последовательность, по сути, комплементарную последовательности-мишени, но предпочтительными являются несколько более длинные праймеры. Обычно праймеры содержат приблизительно 15-26 нуклеотидов, но также можно использовать более длинные или более короткие праймеры.

"Полиморфный сайт" представляет собой положение в локусе, в котором в популяции обнаруживаются по меньшей мере две альтернативные последовательности.

"Полиморфизм" относится к изменению последовательности, наблюдаемому у индивидуума в полиморфном сайте. Типы полиморфизма включают нуклеотидные замены, вставки, делеции и микросателлиты и могут, но не обязательно, обуславливать выявляемые различия в экспрессии генов или функции белка. В отсутствие свидетельств эффекта в отношении экспрессии или функции белка типы обычного полиморфизма, в том числе несинонимичные варианты, как правило, считаются включенными в определение последовательности гена дикого типа.

Каталог типов полиморфизма человека и соответствующих аннотаций, включающих валидацию, частоту наблюдения и ассоциацию с заболеваниями, поддерживается NCBI (dbSNP: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>). Следует обратить внимание, что термин "полиморфизм" при использовании в отношении последовательностей генов не следует путать с термином "полиморфизм" при использовании в отношении твердотельной формы соединения, т.е. кристаллической или аморфной природы соединения. Специалисту в данной области будет понятно предполагаемое значение по его контексту.

"Зонд" относится к одонитевым олигонуклеотидам, специфичным к последовательности, которые имеют последовательность, в точности комплементарную последовательности-мишени аллеля, подлежащего выявлению.

"Ответ" определяется по измерениям, производимым в соответствии с критериями оценки ответа солидных опухолей (RECIST), предусматривающими классификацию пациентов на две основные группы: тех, которые демонстрируют частичный ответ или стабилизацию заболевания, и тех, которые демонстрируют признаки прогрессирования заболевания.

"Жесткие условия гибридизации" относятся к инкубированию в течение ночи при 42°C в растворе, содержащем 50% формамида, 5× SSC (750 mM NaCl, 75 mM цитрат тринатрия), 50 mM фосфат натрия (pH 7,6), 5× раствор Денхардта, 10% сульфат декстрана и 20 пг/мл денатурированной дегидратированной в результате гидродинамического сдвига ДНК из молок лососевых рыб, с последующим промыванием фильтров в 0, 1× SSC приблизительно при 65°C.

"Выживаемость" охватывает общую выживаемость и выживаемость без прогрессирования у пациента.

"Общую выживаемость" (OS) определяют как время от начала введения лекарственного средства до смерти по любой причине. "Выживаемость без прогрессирования заболевания" (PFS) определяют как время от начала введения лекарственного средства до первого проявления прогрессирования заболевания или смерти по любой причине.

В соответствии с одним аспектом настоящего описания предусмотрен способ отбора пациентов для лечения соединением формулы (ID), при этом способ включает

получение от пациента образца, который содержит опухолевые клетки;

определение того, является ли ген ERα в содержащем опухолевые клетки образце, полученном от пациента, геном дикого типа или мутантным; и

отбор пациента для лечения соединением формулы (ID) на основании этого.

Способ может включать или не включать в себя стадию фактического взятия пробы у пациента. Таким образом, в соответствии с одним аспектом настоящего описания предусмотрен способ отбора паци-

ента для лечения соединением формулы (ID), при этом способ включает определение того, является ли ген ER α в предварительно выделенном из организма пациента образце, содержащем опухолевые клетки, геном дикого типа или мутантным; и отбор пациента для лечения соединением формулы (ID) на основании этого.

В одном варианте осуществления пациента отбирают для лечения соединением формулы (ID), если ДНК опухолевой клетки содержит мутантный ген ER α . В других вариантах осуществления пациента, ДНК опухолевой клетки которого содержит ген ER α дикого типа, отбирают для лечения соединением формулы (ID).

Для целей настоящего описания статус гена дикого типа предназначен указывать на нормальную или соответствующую экспрессию гена и нормальную функцию кодируемого белка. В отличие от этого, мутантный статус предназначен указывать на экспрессию белка с измененной функцией в соответствии с известными ролями мутантных генов ER α при раке (как описано в данном документе). Любое количество генетических или эпигенетических изменений, в том числе без ограничения мутация, амплификация, делеция, геномная перестройка или изменения в профиле метилирования, может приводить к возникновению мутантного статуса. Однако если такие изменения, несмотря ни на что, приводят к соответствующей экспрессии нормального белка или функционально эквивалентного варианта, то статус гена считается статусом дикого типа. Примеры вариантов, которые обычно не обуславливают возникновение функционального мутантного статуса гена, включают синонимичные кодирующие варианты и типы обычного полиморфизма (синонимичные или несинонимичные). Как обсуждается ниже, статус гена можно оценить с помощью функционального анализа, или заключение о нем можно сделать на основании природы выявленных отклонений от эталонной последовательности.

В определенных вариантах осуществления статус дикого типа или мутантный статус гена ER α определяют по наличию или отсутствию несинонимичных изменений нуклеиновых кислот в генах. Наблюдаемые несинонимичные изменения, соответствующие известным типам обычного полиморфизма без аннотированных функциональных эффектов, не способствуют возникновению мутантного статуса гена.

Другие изменения в гене ER α , которые указывают на мутантный статус, включают изменения сайта сплайсинга, которые снижают распознавание границы интрон-экзон в ходе преобразования пре-мРНК в мРНК. Это может приводить к пропуску экзона или включению в норму интронной последовательности в подвергнутой сплайсингу мРНК (удерживание интрона или использование скрытых границ сплайсинга). В свою очередь, это может привести к получению aberrантного белка со вставками и/или делециями относительно нормального белка. Таким образом, в других вариантах осуществления ген имеет мутантный статус, если присутствует вариант, который изменяет последовательность распознавания сайта сплайсинга на границе интрон-экзон.

В случае ESR1 доступны эталонные последовательности для гена (номер доступа в GenBank: NG_008493), мРНК (номер доступа в GenBank: NM_000125) и белка (номер доступа в GenBank: NP_000116 или доступ через Swiss-Prot: P03372). Специалист в данной области сможет определить статус гена ESR1, т.е. является ли определенный ген ESR1 геном дикого типа или мутантным геном, на основании сравнения последовательности ДНК или белка с диким типом.

Будет очевидно, что последовательности генов и мРНК, раскрытые для гена ER α , представляют собой иллюстративные последовательности. У нормальных индивидуумов существуют две копии каждого гена, материнская и отцовская копии, которые по всей вероятности будут иметь некоторые различия в последовательностях, более того, в популяции существуют многочисленные аллельные варианты данной последовательности гена. Другие последовательности, которые считаются последовательностями дикого типа, включают такие, которые имеют одно или несколько синонимичных изменений в последовательности нуклеиновой кислоты (причем эти изменения не меняют последовательность кодируемого белка), несинонимичных типов обычного полиморфизма (например, типов полиморфизма в клетках зародышевой линии), изменяющих последовательность белка, но не влияющих на функцию белка, и изменений в последовательностях интронов, не затрагивающих сайт сплайсинга.

Для определения статуса гена ER α существует множество методик, доступных для специалиста в данной области. Статус гена можно определять путем определения последовательности нуклеиновой кислоты. Это можно осуществлять путем прямого секвенирования полноразмерного гена или анализа конкретных сайтов в гене, например сайтов, часто подвергающихся мутации.

Образцы.

Образец от пациента, подлежащий тестированию для выявления статуса гена, может представлять собой любой образец, содержащий опухолевую ткань или опухолевые клетки, полученный или получаемый от индивидуума. В целях удобства тестируемый образец представляет собой образец крови, мазок из полости рта, биоптат или другую биологическую жидкость или ткань, полученные от индивидуума. Конкретные примеры включают циркулирующие опухолевые клетки, циркулирующую ДНК в плазме или сыворотке крови, клетки, выделенные из асцитической жидкости пациентов, страдающих от рака яичника, легочную мокроту пациентов с опухолями в легком, тонкоигольный пунктат, полученный от пациента, страдающего от рака молочной железы, мочу, периферическую кровь, соскоб клеток, волоса-

ной фолликул, образец кожи, полученный путем щипковой биопсии, или образец буккального эпителия.

Будет понятно, что тестируемый образец может в равной степени представлять собой последовательность нуклеиновой кислоты, соответствующую последовательности в тестируемом образце, и это означает, что весь участок в образце нуклеиновой кислоты или его часть перед анализом можно сначала амплифицировать с помощью любой удобной методики, например, полимеразной цепной реакции (ПЦР). Нуклеиновая кислота может представлять собой геномную ДНК или фракционированную или общую клеточную РНК. В конкретных вариантах осуществления РНК представляет собой общую клеточную РНК и используется непосредственно в качестве матрицы для меченя первой нити к ДНК с применением случайных праймеров или поли-А-содержащих праймеров. Нуклеиновую кислоту или белок в тестируемом образце можно экстрагировать из образца в соответствии со стандартными методиками (см. Green & Sambrook, Eds., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, (2012, 4-е изд., том 1-3, ISBN 9781936113422), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.).

Диагностические способы настоящего описания можно осуществлять, используя образец, предварительно взятый у индивидуума или пациента. Такие образцы можно консервировать путем замораживания или фиксации и заливать в формалин/парафин или другую среду. Альтернативно, можно получать и использовать свежий образец, содержащий опухолевые клетки.

Способы в соответствии с настоящим описанием можно применять, используя клетки из любой опухоли. Подходящие опухоли для лечения соединением формулы (ID) были описаны выше в данном документе.

Способы выявления нуклеиновых кислот.

В контексте настоящего описания выявление мутантных нуклеиновых кислот ER α можно использовать для выбора лечения лекарственным средством. Поскольку мутации в этих генах происходят на уровне ДНК, способы в соответствии с настоящим описанием могут основываться на выявлении мутаций или вариаций в геномной ДНК, а также транскриптов и самих белков. Может быть желательным подтверждение мутаций в геномной ДНК путем анализа транскриптов и/или полипептидов, чтобы убедиться в том, что выявленная мутация в действительности экспрессируется в субъекте.

Специалисту в данной области будет очевидно, что существует большое количество аналитических процедур, которые можно применять для выявления наличия или отсутствия вариантов нуклеотидов в одном или нескольких положениях в гене. Как правило, для выявления аллельной вариации требуется методика различения мутаций, необязательно реакция амплификации (как, например, основанная на полимеразной цепной реакции) и необязательно система, генерирующая сигнал. Существует большое число методик выявления мутаций, доступных из уровня техники, и их можно применять в комбинации с системой, генерирующей сигнал, множество из которых доступны из уровня техники. Обзор множества способов обнаружения аллельной вариации приведен в Nollau et al., *Clin. Chem.*, 1997, 43, 1114-1120; Anderson SM. *Expert Rev Mol Diagn.* 2011, 11L 635-642; Meyerson M. et al., *Nat Rev Genet.*, 2010, 11, 685-696; и в стандартных руководствах, например, "Laboratory Protocols for Mutation Detection", под ред. U. Landegren, Oxford University Press, 1996, и "PCR", 2-е изд., Newton & Graham, BIOS Scientific Publishers Limited, 1997.

Как указано выше, определение наличия или отсутствия конкретной вариации или множества вариаций в гене ER α у пациента, страдающего от рака, можно осуществлять различными способами. Такие тесты обычно осуществляют с применением ДНК или РНК, собранной из биологических образцов, например, биоптатов тканей, мочи, кала, мокроты, крови, клеток, соскобов тканей, пунктатов молочной железы или других клеточных материалов, и их можно осуществлять различными способами, включающими без ограничения ПНР, гибридизацию с аллель-специфическими зондами, ферментативное выявление мутаций, химическое расщепление сайтов ошибочного спаривания, масс-спектрометрию или секвенирование ДНК, в том числе мини-секвенирование.

Подходящие методики выявления мутаций включают методики с использованием амплификационной системы для идентификации мутаций (ARMSTM), амплификационной системы для идентификации мутаций с линейным удлинением (ALEXTM), системы конкурентного праймирования олигонуклеотидами (COPS), Taqman, молекулярных маяков, полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP), а также ПНР с введением сайтов рестрикции и резонансного переноса энергии флуоресценции (FRET).

В конкретных вариантах осуществления способ, используемый для определения нуклеотида(нуклеотидов) в биомаркерном гене, выбран из аллель-специфической амплификации (аллель-специфической ПНР), такой как амплификационная система для идентификации мутаций (ARMS), секвенирования, аллельного дискриминантного анализа, гибридизации, полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP) или анализа по методу лигирования олигонуклеотидных зондов (OLA).

В определенных вариантах осуществления гибридизацию с аллель-специфическими зондами можно проводить с помощью (1) аллель-специфических олигонуклеотидов, связанных с твердой фазой (например, стеклом, кремнием, нейлоновыми мембранами) в растворе с меченой пробой, как, например, во многих применениях ДНК-чипов; или (2) связанного образца (часто клонированной ДНК или ДНК, амплифицированной с помощью ПНР) в растворе с мечеными олигонуклеотидами (либо аллель-

специфическими, либо короткими, чтобы обеспечить секвенирование путем гибридизации). В диагностические тесты может быть включен набор вариаций, часто на твердой подложке, что позволяет одновременно определять больше одной вариации. Такие гибридизационные зонды хорошо известны из уровня техники (см., например, Green & Sambrook, Eds., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, (2012, 4-е изд., том 1-3, ISBN 9781936113422), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Нью-Йорк) и могут охватывать два или более сайта с вариациями.

Таким образом, в одном варианте осуществления выявление наличия или отсутствия по меньшей мере одной мутации предусматривает приведение нуклеиновой кислоты ER α , содержащей предполагаемый сайт мутации, в контакт по меньшей мере с одним зондом на основе нуклеиновой кислоты. В условиях избирательной гибридизации зонд предпочтительно гибридизуется с последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей сайт с вариацией и содержащей комплементарные нуклеотидные основания в сайте с вариацией. Гибридизацию можно выявлять с помощью детектируемой метки с использованием меток, известных специалисту в данной области техники. Такие метки включают без ограничения радиоактивные, флуоресцентные, окрашивающие и ферментные метки.

В другом варианте осуществления выявление наличия или отсутствия по меньшей мере одной мутации предусматривает приведение нуклеиновой кислоты ER α , содержащей предполагаемый сайт мутации, в контакт по меньшей мере с одним праймером на основе нуклеиновой кислоты. В условиях избирательной гибридизации праймер предпочтительно гибридизуется с последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей сайт с вариацией и содержащей комплементарные нуклеотидные основания в сайте с вариацией.

Олигонуклеотиды, используемые в качестве праймеров для специфической амплификации, могут содержать нуклеотидное основание, комплементарное в отношении рассматриваемой мутации, в центре молекулы (так, что амплификация зависит от дифференциальной гибридизации; см., например, Gibbs, et al., 1989. *Nucl. Acids Res.*, 17, 2437-248) или на самом краю 3'-конца одного праймера, где при соответствующих условиях ошибочное спаривание оснований может предотвратить или уменьшить осуществляемое полимеразой удлинение цепи (см., например, Prossner, 1993, *Tibtech*. 11 238).

В еще одном варианте осуществления выявление наличия или отсутствия по меньшей мере одной мутации предусматривает секвенирование по меньшей мере одной последовательности нуклеиновой кислоты и сравнение полученной последовательности с известной последовательностью нуклеиновой кислоты дикого типа.

Альтернативно, наличие или отсутствие по меньшей мере одной мутации предусматривает определение последовательности по меньшей мере одной нуклеиновой кислоты с помощью масс-спектрометрии.

В одном варианте осуществления выявление наличия или отсутствия по меньшей мере одной вариации в нуклеиновой кислоте предусматривает осуществление полимеразной цепной реакции (ПЦР). Целевую последовательность нуклеиновой кислоты, содержащую предполагаемую вариацию, амплифицируют, и определяют нуклеотидную последовательность амплифицированной нуклеиновой кислоты. Определение нуклеотидной последовательности амплифицированной нуклеиновой кислоты предусматривает секвенирование по меньшей мере одного сегмента нуклеиновой кислоты. Альтернативно, продукты амплификации можно анализировать любым способом, пригодным для разделения продуктов амплификации в соответствии с их размером, включая автоматический и ручной гель-электрофорез и т.п.

Мутации в геномной нуклеиновой кислоте преимущественно выявляют с помощью методик, основанных на изменении подвижности амплифицированных фрагментов нуклеиновой кислоты. Например, в Chen et al., *Anal Biochem* 1996, 239, 61-9, описано выявление мутаций одиночных оснований с помощью анализа конкурентного изменения подвижности. Кроме того, в продажу поступают системы для анализа, основанные на методике Marcelino et al., *BioTechniques* 1999, 26, 1134-1148.

В конкретном примере для выявления мутаций можно применять капиллярный гетеродуплексный (гибридизационный) анализ, основанный на изменении подвижности дуплексных нуклеиновых кислот в капиллярных системах в результате наличия ошибочного спаривания оснований.

Для получения из образцов нуклеиновых кислот для анализа обычно требуется амплификация нуклеиновых кислот. Многие способы амплификации основаны на ферментативной цепной реакции (такой как полимеразная цепная реакция, лигазная цепная реакция или самоподдерживающаяся репликация последовательностей) или на репликации всего вектора, в который было произведено клонирование, или его части. Предпочтительно амплификация в соответствии с настоящим описанием представляет собой экспоненциальную амплификацию, примером которой является полимеразная цепная реакция.

В литературе описано много методов амплификации мишеней и сигналов, например, общие обзоры этих способов приведены в Landegren, U., et al., *Science*, 1988, 242, 229-237 и Lewis, R., *Genetic Engineering News*, 1990, 10, 54-55. Такие способы амплификации можно применять в способах в соответствии с описанием, представленным авторами настоящего изобретения, и они включают полимеразную цепную реакцию (ПЦР), ПЦР *in situ*, реакцию амплификации с лигазой (LAR), гибридизацию с лигазой, репликазу Q β -бактериофага, транскрипционно-опосредованную амплификационную систему (TAS), ге-

номную амплификацию с секвенированием транскрипта (GAWTS), амплификацию, основанную на последовательности нуклеиновых кислот (NASBA), и гибридизацию *in situ*. Праймеры, подходящие для применения в различных методиках амплификации, можно получать согласно способам, известным из уровня техники.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) представляет собой способ амплификации нуклеиновых кислот, описанный, среди прочего, в патентах США № 4683195 и 4683202. ПЦР состоит из повторяющихся циклов реакций удлинения праймеров, вызываемых ДНК-полимеразой. ДНК-мишень подвергается тепловой денатурации, и два олигонуклеотида, которые расположены с обоих концов последовательности-мишени на противоположных цепях ДНК, подлежащей амплификации, гибридизируются. Эти олигонуклеотиды становятся праймерами для применения с ДНК-полимеразой. ДНК копируется путем удлинения праймера с получением второй копии обеих цепей. Путем повторения цикла тепловой денатурации, гибридизации и удлинения праймеров ДНК-мишень можно амплифицировать в 1 млн или более раз приблизительно за 2-4 ч. ПЦР представляет собой инструмент молекулярной биологии, который необходимо применять в сочетании с методикой выявления для определения результатов амплификации. Преимущество ПЦР заключается в том, что она повышает чувствительность путем амплификации количества ДНК-мишеней в от 1 млн до 1 млрд раз в течение примерно 4 ч. ПЦР можно применять для амплификации любой известной нуклеиновой кислоты в целях диагностики (Mok et al., *Gynaecologic Oncology*. 1994, 52:247-252).

Методику аллель-специфической амплификации, такую как амплификационная система для идентификации мутаций (ARMS™) (Newton et al., *Nucleic Acids Res.*, 1989, 17, 2503-2516), также можно применять для выявления мутаций одиночных оснований. В соответствующих условиях ПЦР-амплификации для предпочтительной амплификации абсолютно совпадающих аллелей (Newton et al., 1989, выше) достаточно ошибочного спаривания пары оснований, происходящего на 3'-конце праймера, что позволяет различать близкородственные молекулы. Амплификационная система, в которой применяются описанные выше праймеры, основывается на том, что олигонуклеотиды с ошибочно спаренными остатками на 3'-конце не будут выполнять функцию праймеров при ПЦР в соответствующих условиях. Эта амплификационная система позволяет проводить генотипирование исключительно путем исследования реакционных смесей после электрофореза в агарозном геле.

Анализ продуктов амплификации можно осуществлять с помощью любого способа, способного обеспечивать разделение продуктов амплификации в соответствии с их размером, в том числе с помощью гель-электрофореза в автоматическом и ручном режимах, масс-спектрометрии и т.п.

Способы выделения, амплификации и анализа нуклеиновой кислоты являются обычными для специалиста в данной области, и примеры протоколов могут быть найдены, например, в Green & Sambrook, Eds., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, (2012, 4-е изд., том 1-3, ISBN 9781936113422), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.) Особенно полезным источником протоколов для способов, применяемых в ПЦР-амплификации, является PCR (Basics: From Background to Bench), M.J. McPherson, S.G. Mailer, R. Beynon, C. Howe, Springer Verlag; 1-е изд. (15 октября 2000 г.), ISBN: 0387916008.

В настоящем описании также предусмотрены наборы для прогнозирования и диагностики, содержащие "вырожденные" праймеры для амплификации целевой последовательности нуклеиновой кислоты из гена ER α и инструкции, включающие протокол амплификации и анализ результатов. Альтернативно набор может также содержать буферы, ферменты и контейнеры для осуществления амплификации и анализа продуктов амплификации. Набор может также быть компонентом набора для скрининга или диагностики, содержащего другие инструменты, такие как ДНК-микроматрицы или другие подложки. Предпочтительно набор также предусматривает одну или несколько матриц с контролями, такими как нуклеиновые кислоты, выделенные из образцов нормальной ткани, и/или ряды образцов, представляющие различные вариации в эталонных генах.

В одном варианте осуществления в наборе предусмотрены две или более пары праймеров, причем каждая пара пригодна для амплификации отдельного участка эталонного гена (ER α) (каждый участок представляет собой сайт возможной вариации) с обеспечением, таким образом, набора для анализа в биологическом образце экспрессии нескольких вариаций в гене в одной реакции или в нескольких параллельных реакциях.

Праймеры в наборах могут быть мечеными, например флуоресцентно мечеными, для способствования детектированию продуктов амплификации и последующего анализа вариаций в нуклеиновой кислоте. В наборе может быть также предусмотрено выявление более чем одной вариации за один анализ. Поэтому комбинированный набор будет содержать праймеры, пригодные для амплификации различных сегментов эталонного гена. Праймеры можно метить дифференциально, например, с использованием различных флуоресцентных меток, чтобы дифференцировать различные вариации.

В другом аспекте в настоящем описании предусмотрен способ лечения пациента, страдающего раком, включающий присвоение гену ER α в опухолевых клетках пациента статуса мутантного гена или гена дикого типа и, если ген ER α является мутантным, введение пациенту эффективного количества со-

единения формулы (ID).

Применяемые в данном документе термины "эффективный" и "эффективность" охватывают как фармакологическую эффективность, так и физиологическую безопасность. Фармакологическая эффективность относится к способности лечения обеспечивать желаемый биологический эффект у пациента. Физиологическая безопасность относится к уровню токсичности или другим неблагоприятным физиологическим эффектам на клеточном уровне, на уровне органов и/или организма в целом (часто называемым побочными эффектами), возникающим в результате введения терапевтического средства. "Менее эффективный" означает, что лечение приводит к терапевтически менее значимому уровню фармакологической эффективности и/или терапевтически более высокому уровню неблагоприятных физиологических эффектов.

В соответствии с другим аспектом настоящего описания предусмотрено применение соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли для лечения пациента, страдающего от рака, опухолевые клетки которого были идентифицированы как содержащие мутантный ген ER α .

В соответствии с другим аспектом настоящего описания предусмотрено соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль для лечения видов рака, при которых опухолевые клетки идентифицированы как несущие мутантный ген ER α .

В соответствии с другим аспектом настоящего описания предусмотрен способ лечения видов рака, при которых опухолевые клетки идентифицированы как несущие мутантный ген ER α , включающий введение эффективного количества соединения формулы (ID) или его фармацевтически приемлемой соли.

В еще нескольких дополнительных вариантах осуществления настоящее описание относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (ID), предназначенной для применения в предупреждении и лечении рака с опухолевыми клетками, идентифицированными как несущие мутантный ген ER α .

Применительно ко всем вышеприведенным аспектам определяемые/выявляемые мутантные формы ER α являются таковыми по любым положениям во всем гене.

Применительно ко всем вышеприведенным аспектам при применении в качестве примера такой опухоли, как рак молочной железы, конкретными определенными/выявленными мутантными формами ER α являются формы с мутациями в положениях Ser463Pro, Val543Glu, Leu536Arg, Tyr537Ser, Tyr537Asn и Asp538Gly.

Описание графических материалов

На фиг. 1 показана порошковая рентгенограмма для формы A N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин.

На фиг. 2 показана термограмма DSC/TGA для формы A N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин.

На фиг. 3 показана порошковая рентгенограмма для формы B N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин.

На фиг. 4 показана порошковая рентгенограмма для формы C N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин.

На фиг. 5 показана термограмма DSC/TGA для формы C N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин.

На фиг. 6 показана порошковая рентгенограмма для формы D N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин.

На фиг. 7 показана термограмма DSC/TGA для формы D N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин.

На фиг. 8 показана порошковая рентгенограмма для формы E N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин.

На фиг. 9 показана термограмма DSC/TGA для формы E N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин.

На фиг. 10 показана порошковая рентгенограмма для формы F N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин.

На фиг. 11 показана порошковая рентгенограмма для формы G N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-

6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин.

На фиг. 12 показаны результаты исследования на мышинной модели противоопухолевой эффективности N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин в отношении ксенотрансплантата, представляющего собой исходную MCF7 человека.

На фиг. 13 показаны результаты исследования на мышинной модели противоопухолевой эффективности N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин в отношении ксенотрансплантата человека, представляющего собой MCF7, с мутацией Y537S в ESR1.

На фиг. 14 показаны результаты исследования на мышинной модели противоопухолевой эффективности N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин в отношении ксенотрансплантата человека, представляющего собой CTC174, полученного от пациента с раком молочной железы и мутацией в ESR1.

На фиг. 15 показаны результаты исследования на мышинной модели противоопухолевой эффективности комбинации N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин и палбоциклиба в отношении ксенотрансплантата человека, представляющего собой CTC174, полученного от пациента с раком молочной железы и мутацией в ESR1.

На фиг. 16 показаны результаты исследования на мышинной модели противоопухолевой эффективности комбинации N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин и вистусертиба (AZD2014) в отношении ксенотрансплантата человека, представляющего собой CTC174, полученного от пациента с раком молочной железы и мутацией в ESR1.

Примеры

Соединения, описанные в настоящем документе, дополнительно проиллюстрированы в следующих примерах. Эти примеры приведены в качестве иллюстрации, но не в качестве ограничения. В целом, предусматривается следующее.

(i) Операции проводили при температуре окружающей среды, т.е. в диапазоне 17-25°C и в атмосфере инертного газа, такого как азот, если не указано иное.

(ii) Выпаривание проводили путем ротационного выпаривания или с использованием оборудования Genevac или испарителя Biotage v10 in vacuo, а процедуры выделения продукта проводили после удаления остаточных твердых веществ путем фильтрации.

(iii) Очистку с помощью флэш-хроматографии осуществляли на автоматизированной системе Teledyne Isco CombiFlash® Rf или Teledyne Isco CombiFlash® Companion® с применением предварительно заполненных колонок RediSep Rf Gold™ (20-40 мкм, сферические частицы), картриджами GraceResolv™ (силикагель Davisil®) или картриджами Silicycle (40-63 мкм).

(iv) Препаративную хроматографию проводили на устройстве для препаративной HPLC Gilson с UV-системой сбора или посредством сверхкритической жидкостной хроматографии, осуществляемой на устройстве Waters Prep 100 SFC-MS с MS- и UV-системой сбора или на устройстве Thar MultiGram III SFC с UV-системой сбора.

(v) Хиральную препаративную хроматографию проводили на устройстве Gilson с UV-системой сбора (233 инжектор/коллектор фракций, 333 и 334 насосы, 155 UV-детектор) или на устройстве Varian Prep Star (2× SD1 насосы, 325 UV-детектор, 701 коллектор фракций) с насосом, работающим с инжектором Gilson 305.

(vi) Значения выхода, при наличии, необязательно были достижимым максимумом.

(vii) Обычно структуры конечных продуктов формулы I подтверждали с помощью спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР); значения химического сдвига при ЯМР измеряли по дельта-шкале [спектры протонного магнитного резонанса определяли с помощью устройства Bruker Avance 500 (500 МГц) или Bruker Avance 400 (400 МГц)]; измерения проводили при температуре окружающей среды, если не указано иное; были использованы следующие сокращения: s, синглет; d, дублет; t, триплет; q, квартет; m, мультиплет; dd, дублет дублетов; ddd, дублет дублета дублетов; dt, дублет триплетов; bs, широкий сигнал.

(viii) Обычно также определяли характеристики конечных продуктов формулы I с помощью масс-спектропии после жидкостной хроматографии (LCMS или UPLC); UPLC проводили с применением Waters UPLC, оснащенного масс-спектрометром Waters SQ (температура колонки 40, UV=220-300 нм, масс-спектрометрия = ESI с переключением положительного/отрицательного заряда) при скорости потока 1 мл/мин, с применением системы растворителей от 97% А + 3% В до 3% А до 97% В за 1,50 мин (общее время прогона с уравниванием до исходных условий и т.д. 1,70 мин.), где А = 0,1% муравьиная кислота в воде (для работы с кислотой) или 0,1% аммиак в воде (для работы с основанием); В = ацетонитрил. Для кислотного анализа применяемая колонка представляла собой Waters Acquity HSS T3, 1,8

мкм, 2,1×50 мм, для основного анализа применяемая колонка представляла собой Waters Acquity BEH 1,7 мкм, 2,1×50 мм; LCMS проводили с применением системы Waters Alliance HT (2795), оснащенной масс-спектрометром Waters ZQ ESCi и колонкой Phenomenex Gemini -NX (50×2,1 мм, 5 мкм) при скорости потока 1,1 мл/мин от 95% А до 95% В за 4 мин с удержанием 0,5 мин. Модификатор поддерживали на постоянном уровне 5% С (50:50 ацетонитрил:вода 0,1% муравьиная кислота) или D (50:50 ацетонитрил:вода 0,1% гидроксид аммония (0,88 SG) в зависимости от того, был ли способ кислотным или основным.

(ix) Ионообменную очистку обычно осуществляли с применением картриджа SCX-2 (Biotage, диоксид кремния, функционализированный пропилсульфоновой кислотой. Изготовленный с применением трифункционального силана. Без блокирования конечных групп).

(x) Чистоту промежуточного соединения оценивали с помощью тонкослойной хроматографии, масс-спектрометрического, HPLC-(высокоэффективной жидкостной хроматографии) и/или ЯМР-анализа.

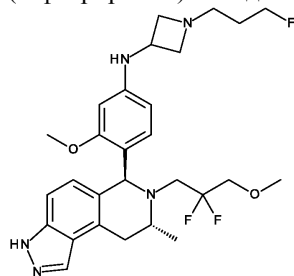
(xi) Применяли следующие сокращения:

AcOH	уксусная кислота
водн.	водный
Boc	трет-бутоксикарбонил
n-BuLi	н-бутиллитий
tBuOH	трет-бутанол
Brettphos	2-(дициклогексилфосфино)3,6-диметокси- 2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил
CDCl ₃	дейтеро-хлороформ
CHCl ₃	хлороформ
Конц.	концентрированный
DCM	дихлорметан
DIPEA	диизопропилэтиламин
DMAP	диметиламинопиридин
DMSO	диметилсульфоксид
EtOH	этанол
EtOAc	этилацетат
HATU	гексафторфосфат 1-

	[бис(диметиламино)метиле́н]-1 <i>H</i> -1,2,3- триазоло[4,5- <i>b</i>]пириди́ний-3-оксида
HCl	хлористоводородная кислота
HPLC	высокоэффективная жидкостная хроматография
K ₂ CO ₃	карбонат калия
MeOH	метанол
MgSO ₄	сульфат магния
NaH	гидрид натрия
NaHCO ₃	бикарбонат натрия
Na ₂ SO ₄	сульфат натрия
Pd ₂ (dba) ₃	трис(дибензилиденацетон)дипалладий(0)
Rac-BINAP	(±)-2,2'-Бис(дифенилфосфино)-1,1'- бинафталин
к. т.	комнатная температура
прекатализатор 3 ^{го}	[(2-Ди-трет-бутилфосфино-3-метокси-6- метил-2',4',6'-триизопропил-1,1'- бифенил)-2-(2- аминобифенил)]палладия(II)
поколения RockPhos	метансульфонат
Ruphos	2-Дициклогексилфосфино-2',6'- диизопропокси-1,1'-бифенил
насыщ.	насыщенный
SFC	сверхкритическая жидкостная хроматография
раств.	раствор
TBAF	фторид тетра- <i>n</i> -бутиламмония
TEA	триэтиламин
THF	тетрагидрофуран
THP	тетрагидропиран
TFA	трифторуксусная кислота
Xantphos	4,5-бис(дифенилфосфино)-9,9-диметил

Пример 1.

N-(4-((6*S*,8*R*)-7-(2,2-Дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3*H*-пиразоло[4,3-*f*]изохиолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин



[(2-Дициклогексилфосфино-3,6-диметокси-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил)-2-(2'-амино-1,1'-бифенил)]палладия(II) метансульфонат (BrettPhos Pd G3) (6,80 мг, 7,50 мкмоль) добавляли к суспензии (6*S*,8*R*)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2*H*-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3*H*-пиразоло[4,3-*f*]изохиолина (85 мг, 0,15 ммоль), 1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (29,7 мг, 0,23 ммоль) и трет-бутоксид натрия (28,8 мг, 0,30 ммоль) в дегазированном 1,4-диоксане (1,5 мл) и реакционную смесь нагревали до 90°C в течение 3 ч. После охлаждения реакционную смесь

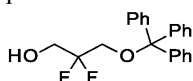
разбавляли с помощью DCM и промывали водой. Водный слой экстрагировали с помощью DCM, затем объединенные органические вещества высушивали и выпаривали. Неочищенный остаток растворяли в DCM (2 мл) и добавляли TFA (0,7 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, затем ее разбавляли с помощью DCM и подщелачивали путем добавления насыщенного раствора NaHCO_3 . Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические вещества высушивали и выпаривали, затем неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 20% MeOH в EtOAc. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением N-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)-азетидин-3-амин (39,0 мг, 49%) в виде бежевого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,09 (3H, d), 1,83 (2H, ddd), 2,65-2,86 (4H, m), 2,96-3,08 (1H, m), 3,11 (1H, dd), 3,22 (2H, d), 3,38 (3H, s), 3,51-3,63 (2H, m), 3,73-3,82 (1H, m), 3,82 (3H, s), 3,86 (2H, q), 4,15-4,28 (1H, m), 4,43 (1H, t), 4,53 (1H, t), 5,37 (1H, s), 5,88 (1H, dd), 6,14 (1H, d), 6,46 (1H, d), 6,80 (1H, d), 7,13 (1H, d), 8,04 (1H, d);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 532$.

(6S,8R)-6-(4-Бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин получали следующим образом.

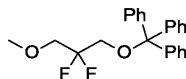
Получение 2,2-дифтор-3-(третилокси)пропан-1-ола



2,2-Дифторпропан-1,3-диол (2,50 г, 22,3 ммоль) растворяли в DCM (61,7 мл) и THF (15,4 мл). Добавляли DIPEA (3,93 мл, 22,3 ммоль) с последующим добавлением (хлорметантриил)трибензола (6,22 г, 22,3 ммоль) и, наконец, DMAP (0,288 г, 2,23 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 40°C в течение 2 ч. После охлаждения реакционную смесь промывали с помощью 1н. раствора HCl, затем высушивали и выпаривали. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 25% EtOAc в гептане. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением 2,2-дифтор-3-(третилокси)пропан-1-ола (4,43 г, 56%) в виде бесцветного твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) 3,42 (2H, t), 3,92 (2H, t), 7,23-7,3 (4H, m), 7,3-7,39 (6H, m), 7,39-7,49 (6H, m).

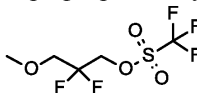
Получение ((2,2-дифтор-3-метоксипропокси)метантриил)трибензола



Гидрид натрия (0,562 г, 14,0 ммоль) добавляли к раствору 2,2-дифтор-3-(третилокси)пропан-1-ола (4,15 г, 11,7 ммоль) в THF (46 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч, затем добавляли йодметан (0,802 мл, 12,9 ммоль) в THF (5 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение дополнительного 1 ч. Реакционную смесь гасили водой и соевым раствором, затем экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой высушивали и выпаривали с получением ((2,2-дифтор-3-метоксипропокси)метантриил)трибензола (4,18 г, 97%) в виде бледно-желтого масла.

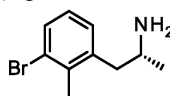
^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) 3,36 (2H, t), 3,40 (3H, s), 3,77 (2H, t), 7,15-7,28 (3H, m), 7,28-7,38 (6H, m), 7,39-7,47 (6H, m).

Получение 2,2-дифтор-3-метоксипропилтрифторметансульфоната



Ангидрид трифторметансульфоновой кислоты (1,918 мл, 11,40 ммоль) добавляли к раствору ((2,2-дифтор-3-метоксипропокси)метантриил)трибензола (4,00 г, 10,9 ммоль) в DCM (39,6 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин, затем добавляли триэтилсилан (1,934 мл, 11,94 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение дополнительных 30 мин. Реакционную смесь выпаривали и трифлат применяли непосредственно на следующей стадии.

Получение (R)-1-(3-бром-2-метилфенил)пропан-2-амин



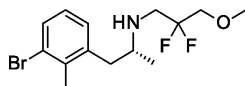
n-BuLi (26,1 мл, 41,8 ммоль) добавляли по каплям к раствору 1,3-дибром-2-метилбензола (9,95 г, 39,8 ммоль) в THF (100 мл) при -78°C. После перемешивания в течение 30 мин добавляли порциями (R)-трет-бутил-4-метил-1,2,3-оксатиазолидин-3-карбоксилат-2,2-диоксид (10,39 г, 43,8 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение дополнительных 30 мин перед тем, как обеспечивали ее нагревание до 0°C на протяжении 30 мин. Добавляли 1н. лимонную кислоту и смесь перемешивали в течение

5 мин перед тем, как ее экстрагировали с помощью EtOAc (×2). Объединенные органические фазы выпаривали. Остаток перемешивали в 4 М HCl в диоксане (69,7 мл, 278,7 ммоль) при комнатной температуре в течение 1 ч, затем летучие вещества выпаривали. Остаток суспендировали в диэтиловом эфире и экстрагировали с помощью воды (×2). Объединенные водные фазы подщелачивали путем добавления 2н. Na₂CO₃, затем экстрагировали с помощью DCM (×3). Объединенные органические фазы высушивали над MgSO₄ и концентрировали с получением (R)-1-(3-бром-2-метилфенил)пропан-2-амина (7,55 г, 83%) в виде желтого масла.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃, 27°C) 1,13 (3H, d), 1,43 (2H, s), 2,40 (3H, s), 2,61 (1H, dd), 2,77 (1H, dd), 3,14 (1H, dq), 6,97 (1H, t), 7,08 (1H, d), 7,43 (1H, d);

масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺ = 228.

Получение (R)-N-(1-(3-бром-2-метилфенил)пропан-2-ил)-2,2-дифтор-3-метоксипропан-1-амина

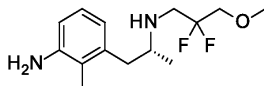


2,2-Дифтор-3-метоксипропилтрифторметансульфонат (3,03 г, 11,73 ммоль) (неочищенный, из предыдущей стадии) добавляли к раствору (R)-1-(3-бром-2-метилфенил)пропан-2-амина (2,327 г, 10,2 ммоль) и DIPEA (2,82 мл, 16,32 ммоль) в 1,4-диоксане (34,3 мл) и реакционную смесь нагревали до 80°C в течение ночи. После охлаждения летучие вещества выпаривали, затем остаток растворяли в DCM и промывали с помощью солевого раствора. Органическую фазу высушивали и выпаривали, затем неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 100% EtOAc в гептане. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением (R)-N-(1-(3-бром-2-метилфенил)пропан-2-ил)-2,2-дифтор-3-метоксипропан-1-амина (2,330 г, 68%) в виде бледно-желтого масла.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) 1,06 (3H, d), 2,40 (3H, s), 2,63 (1H, dd), 2,82 (1H, dd), 2,86-2,94 (1H, m), 2,95-3,11 (2H, m), 3,38 (3H, s), 3,51-3,63 (2H, m), 6,94-7 (1H, m), 7,07 (1H, dd), 7,4-7,51 (1H, m);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 336.

Получение (R)-3-(2-((2,2-дифтор-3-метоксипропил)амино)пропил)-2-метиланилина

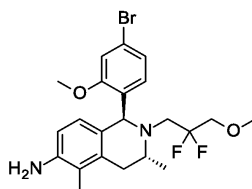


Pd₂(dba)₃ (0,184 г, 0,20 ммоль) и Rac-BINAP (0,250 г, 0,40 ммоль) добавляли к суспензии (R)-N-(1-(3-бром-2-метилфенил)пропан-2-ил)-2,2-дифтор-3-метоксипропан-1-амина (2,25 г, 6,69 ммоль), бензофенонимина (1,334 г, 7,36 ммоль) и трет-бутоксид натрия (0,965 г, 10,0 ммоль) в дегазированном толуоле (28,5 мл) и реакционную смесь нагревали до 90°C в течение 3 ч. После охлаждения значительное количество толуола выпаривали, затем остаток растворяли в DCM и промывали водой. Водную фазу экстрагировали с помощью DCM, затем органические вещества выпаривали до объема ~50 мл. Добавляли 2н. раствор HCl (50 мл) и двухфазную смесь энергично перемешивали в течение 30 мин. Слои разделяли, затем водный слой экстрагировали с помощью DCM. Органическую фазу снова экстрагировали с помощью 1н. HCl. Объединенные водные фазы подщелачивали посредством добавления твердого K₂CO₃, затем экстрагировали с помощью DCM (×3) и объединенные экстракты в DCM высушивали и выпаривали с получением (R)-3-(2-((2,2-дифтор-3-метоксипропил)амино)пропил)-2-метиланилина (1,780 г, 98%) в виде светло-коричневого масла.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) 1,06 (3H, d), 2,11 (3H, s), 2,59 (1H, dd), 2,75 (1H, dd), 2,86-2,94 (1H, m), 2,94-3,12 (2H, m), 3,38 (3H, s), 3,53-3,63 (4H, m), 6,5-6,68 (2H, m), 6,86-7,01 (1H, m);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ 273.

Получение (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-2-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина



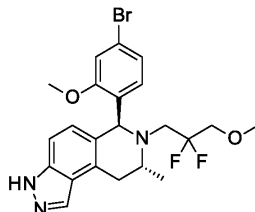
(R)-3-(2-((2,2-Дифтор-3-метоксипропил)амино)пропил)-2-метиланилин (490 мг, 1,80 ммоль) и 4-бром-2-метоксибензальдегид (813 мг, 3,78 ммоль) нагревали в уксусной кислоте (8,8 мл) и воде (0,162 мл, 9,00 ммоль) до 75°C в течение ночи. После охлаждения уксусную кислоту выпаривали под вакуумом, затем остаток растворяли в EtOAc (20 мл) и добавляли 2н. раствор HCl (20 мл). Двухфазную смесь перемешивали в течение 30 мин, затем слои разделяли. Органическую фазу экстрагировали с помощью воды, затем водную фазу подщелачивали путем добавления 2н. раствора NaOH и экстрагировали с помощью DCM (×2). Объединенные слои DCM высушивали и выпаривали, затем неочищенный про-

дукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 50% EtOAc в гептане. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-2-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина (384 мг, 46%) в виде бежевого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,03 (3H, d), 2,07 (3H, s), 2,42 (1H, dd), 2,60-2,76 (2H, m), 2,99 (1H, ddd), 3,34 (1H, d), 3,36 (3H, s), 3,52 (2H, s), 3,54-3,66 (1H, m), 3,76 (1H, ddd), 3,87 (3H, s), 5,28 (1H, s), 6,47 (2H, s), 6,59 (1H, d), 6,88 (1H, dd), 7,01 (1H, d);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 469$.

Получение (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина

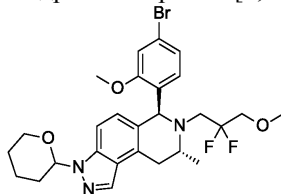


Нитрит натрия (59,8 мг, 0,87 ммоль) добавляли в воде (0,2 мл) к охлажденному раствору (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-2-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина (370 мг, 0,79 ммоль) в пропионовой кислоте (2628 мкл)/воде (526 мкл) при -10°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч, затем добавляли ледяной EtOAc (20 мл). Реакционную смесь гасили путем добавления холодного насыщенного раствора NaHCO_3 и перемешивали в течение 15 мин перед тем, как обеспечивали нагревание до комнатной температуры. Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические вещества высушивали и выпаривали, затем неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 50% EtOAc в гептане. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (252 мг, 67%) в виде бежевого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,10 (3H, d), 2,72 (1H, td), 2,85 (1H, dd), 3,08 (1H, ddd), 3,16 (1H, dd), 3,36 (3H, s), 3,48 - 3,66 (2H, m), 3,65 - 3,81 (1H, m), 3,90 (3H, s), 5,44 (1H, s), 6,59 (1H, d), 6,77 (1H, d), 6,89 (1H, dd), 7,05 (1H, d), 7,19 (1H, dd), 8,07 (1H, d);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 480$.

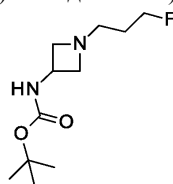
Получение (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина



3,4-Дигидро-2H-пиран (0,064 мл, 0,70 ммоль) добавляли к раствору (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (240 мг, 0,50 ммоль) и гидрата п-толуолсульфоновой кислоты (9,51 мг, 0,05 ммоль) в DCM (2,5 мл) и реакционную смесь нагревали до 40°C в течение 1 ч. После охлаждения реакционную смесь разбавляли с помощью DCM и промывали с помощью насыщенного раствора NaHCO_3 . Органическую фазу высушивали и выпаривали. Неочищенный остаток пропускали через пробку из силикагеля (EtOAc/гептан, 1:1, в качестве элюента) и фильтрат выпаривали с получением (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (262 мг, 93%) в виде бледно-желтого твердого вещества в виде соотношения 5:1 региоизомеров ТНР (каждый региоизомер ТНР представляет собой диастереоизомерную смесь).

Масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 564$.

Получение трет-бутил(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)карбамата

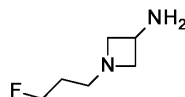


Карбонат калия (1,605 г, 11,61 ммоль), трет-бутилазетидин-3-илкарбамат (1,0 г, 5,81 ммоль) и

1-фтор-3-йодпропан (1,146 г, 6,10 ммоль) суспендировали в ацетонитриле (11,61 мл) и герметизировали в пробирке для микроволновой обработки. Реакционную смесь нагревали до 95°C в течение 15 мин в реакторе для микроволновой обработки. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли с помощью EtOAc (100 мл) и экстрагировали из насыщенного NaHCO₃ (50 мл). Органическую фазу высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали с получением трет-бутил(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)карбамата (1,248 г, 93%) в виде желтого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃, 22°C) 1,44 (9H, s), 1,68-1,80 (2H, m), 2,56 (2H, t), 2,88 (2H, s), 3,66 (2H, t), 4,31 (1H, d), 4,43 (1H, t), 4,53 (1H, t), 4,90 (1H, s).

Получение 1-(3-фторпропил)азетидин-3-амина

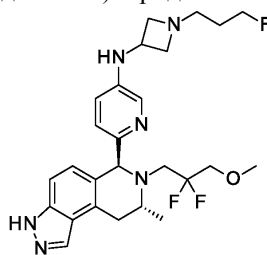


TFA (2,69 мл) добавляли к раствору трет-бутил(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)карбамата (1,248 г, 5,37 ммоль) в DCM (8,06 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Летучие вещества выпаривали и очищали с помощью ионообменной хроматографии с применением колонки SCX. Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 1 M NH₃/MeOH и чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением 1-(3-фторпропил)азетидин-3-амина (0,697 г, 98%) в виде бесцветного масла.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃, 27°C) 1,66-1,83 (2H, m), 1,96 (3H, s), 2,54 (2H, t), 2,67 (2H, td), 3,58-3,70 (2H, m), 4,43 (1H, t), 4,52 (1H, t).

Пример 2.

6-((6S,8R)-7-(2,2-Дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин



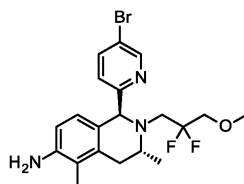
[(2-Дициклогексилфосфино-3,6-диметокси-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил)-2-(2'-амино-1,1'-бифенил)]палладия(II) метансульфонат (BrettPhos Pd G3) (6,83 мг, 8,00 мкмоль) и трет-бутоксид натрия (48,0 мг, 0,50 ммоль) добавляли к дегазированному раствору (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (107 мг, 0,20 ммоль) и 1-(3-фторпропил)азетидин-3-амина (52,9 мг, 0,40 ммоль) в 1,4-диоксане (1,6 мл) и реакционную смесь нагревали до 90°C в течение 5 ч. После охлаждения реакционную смесь разбавляли с помощью DCM и промывали водой. Органическую фазу выпаривали, затем растворяли в DCM (2 мл) перед тем, как добавляли TFA (1 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, затем разбавляли с помощью DCM и промывали с помощью насыщенного раствора NaHCO₃. Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические вещества высушивали и выпаривали, затем неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 20% MeOH в EtOAc. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением 6-((6S,8R)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амина (83 мг, 83%) в виде бежевого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) 1,12 (3H, d), 1,79 (2H, ddd), 2,71 (2H, t), 2,75- 2,90 (2H, m), 3,06-3,23 (3H, m), 3,39 (3H, s), 3,51- 3,66 (2H, m), 3,66-3,76 (1H, m), 3,76-3,84 (2H, m), 4,14 (1H, s), 4,44 (2H, t), 4,53 (1H, t), 5,06 (1H, s), 6,80 (1H, dd), 6,88 (1H, d), 7,13 (2H, dd), 7,84 (1H, d), 7,99 (1H, d);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 503.

(6S,8R)-6-(5-Бромпиридин-2-ил)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин получали следующим образом.

Получение (1S,3R)-1-(5-бромпиридин-2-ил)-2-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина



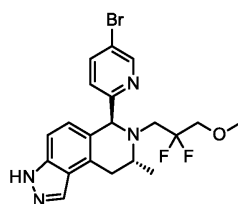
5-Бромпиридинальдегид (1172 мг, 6,30 ммоль) добавляли к раствору (R)-3-(2-((2,2-дифтор-3-

метоксипропил)амино)пропил)-2-метиланилина (817 мг, 3,00 ммоль) в уксусной кислоте (14,7 мл) и воде (270 мкл, 15,0 ммоль) и реакционную смесь нагревали до 80°C в течение 2 ч. После охлаждения летучие вещества выпаривали под вакуумом. Остаток растворяли в DCM и промывали с помощью насыщенного раствора NaHCO₃. Органическое вещество выпаривали до объема ~20 мл и добавляли 2н. раствор HCl (20 мл). Двухфазную смесь перемешивали в течение 15 мин, затем разделяли. Органическое вещество экстрагировали с помощью воды, затем водную фазу снова экстрагировали с помощью DCM. Затем водную фазу подщелачивали путем добавления твердого K₂CO₃, затем экстрагировали с помощью DCM. Органические экстракты высушивали и выпаривали. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 50% EtOAc в гептане. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением (1S,3R)-1-(5-бромпиридин-2-ил)-2-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (810 мг, 61%) в виде бежевого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) 1,07 (3H, d), 2,05 (3H, s), 2,49 (1H, d), 2,75 (2H, dd), 3,04-3,17 (1H, m), 3,30-3,36 (1H, m), 3,37 (3H, s), 3,58-3,74 (2H, m), 4,96 (1H, s), 6,51 (1H, d), 6,60 (1H, d), 7,22 (1H, d), 7,68 (1H, dd), 8,55 (1H, dd);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 440.

Получение (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина

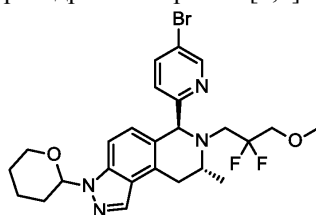


Нитрит натрия (133 мг, 1,93 ммоль) добавляли в воде (0,5 мл) к охлажденному раствору (1S,3R)-1-(5-бромпиридин-2-ил)-2-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (771 мг, 1,75 ммоль) в пропионовой кислоте (5833 мкл)/воде (1167 мкл) при -15°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин, затем добавляли EtOAc (50 мл), который был охлажден в сухом льду. Реакционную смесь гасили путем добавления 2н. Na₂CO₃ до прекращения выделения пузырьков газа, затем слои разделяли. Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc, затем органическое вещество высушивали и выпаривали. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 50% EtOAc в гептане. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (460 мг, 58%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) 1,14 (3H, d), 2,81 (1H, dd), 2,88 (1H, dd), 3,10-3,26 (2H, m), 3,38 (3H, s), 3,46-3,55 (1H, m), 3,58-3,76 (2H, m), 5,13 (1H, s), 6,94 (1H, d), 7,23 (1H, dd), 7,29 (1H, d), 7,72 (1H, dd), 8,05 (1H, d), 8,57 (1H, dd);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 451.

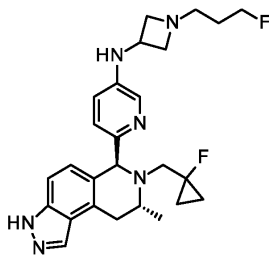
Получение (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина



3,4-Дигидро-2H-пиран (0,114 мл, 1,25 ммоль) добавляли к раствору (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (450 мг, 1,00 ммоль) и гидрата PTSA (37,9 мг, 0,20 ммоль) в DCM (5 мл) и реакционную смесь нагревали до 45°C в течение 3 ч. После охлаждения реакционную смесь разбавляли с помощью DCM и промывали с помощью насыщенного раствора NaHCO₃. Органическую фазу высушивали и выпаривали, затем неочищенное вещество пропускали через пробку из диоксида кремния (EtOAc/гептан 1:1). Фильтрат выпаривали с получением (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (510 мг, 9%) в виде оранжевого твердого вещества (соотношение ~6,5:1 региоизомеров THP).

Масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 535.

Пример 3. 6-((6S,8R)-7-((1-Фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин



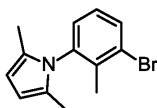
[(2-Дициклогексилфосфино-3,6-диметокси-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил)-2-(2'-амино-1,1'-бифенил)]палладия(II) метансульфонат (BrettPhos Pd G3) (12,11 мг, 0,01 ммоль) и трет-бутоксид натрия (85 мг, 0,89 ммоль) добавляли к дегазированному раствору (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (177 мг, 0,35 ммоль) и 1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (94 мг, 0,71 ммоль) в 1,4-диоксане (2835 мкл) и реакционную смесь нагревали до 90°C в течение 5 ч. После охлаждения реакционную смесь разбавляли с помощью DCM и промывали водой. Органическую фазу выпаривали, затем растворяли в DCM (2 мл) перед тем, как добавляли TFA (1 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, затем разбавляли с помощью DCM и промывали с помощью насыщенного раствора NaHCO₃. Слои разделяли и водную фазу экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические вещества высушивали и выпаривали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной LCMS (колонка Waters SunFire, 5 мкм диоксид кремния, 19 мм в диаметре, 100 мм в длину) с применением смесей воды (содержащей 1% NH₃) и MeCN с уменьшающейся полярностью в качестве элюентов. Фракции, содержащие необходимые соединения, выпаривали до сухого состояния с получением 6-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин (17,0 мг, 10%) в виде бежевого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃, 27°C) 0,36-0,46 (1H, m), 0,49-0,59 (1H, m), 0,88-1,07 (2H, m), 1,09 (3H, d), 1,69-1,75 (1H, m), 1,75-1,81 (1H, m), 2,59 (2H, t), 2,70 (1H, dd), 2,86-2,96 (3H, m), 3,01-3,11 (1H, m), 3,37-3,44 (1H, m), 3,72 (2H, q), 3,78-3,88 (1H, m), 3,95 (1H, d), 4,04-4,13 (1H, m), 4,44 (1H, t), 4,53 (1H, t), 4,95 (1H, s), 6,75 (1H, dd), 6,91 (1H, d), 7,12-7,17 (2H, m), 7,86 (1H, d), 8,05 (1H, d), 10,04 (1H, s);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 467.

(6S,8R)-6-(5-Бромпиридин-2-ил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин получали следующим образом.

Получение 1-(3-бром-2-метилфенил)-2,5-диметил-1H-пиррола

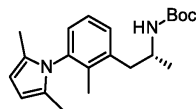


Смесь 3-бром-2-метиланилина (40 г, 215 ммоль), гексан-2,5-диона (25,3 мл, 215 ммоль) и моногидрата п-толуолсульфоновой кислоты (0,409 г, 2,15 ммоль) в толуоле (300 мл) нагревали с обратным холодильником в течение 2 ч в колбе, оснащенной конденсатором и ловушкой Дина-Старка. Затем смесь охлаждали до комнатной температуры и последовательно промывали с помощью насыщенного водного раствора бикарбоната натрия, водного раствора HCl (1н.) и насыщенного водного раствора хлорида натрия. Органический слой высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного 1-(3-бром-2-метилфенил)-2,5-диметил-1H-пиррола (57,9 г, 102%) в виде бледно-желтого масла.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 1,8 (6H, s), 1,9 (3H, s), 5,8 (2H, s), 7,2-7,4 (2H, m), 7,7 (1H, dd);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 264.

Получение трет-бутил(R)-(1-(3-(2,5-диметил-1H-пиррол-1-ил)-2-метилфенил)пропан-2-ил)карбамата

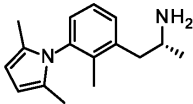


n-Бутиллитий в гексане (2,5 M; 89 мл, 221 ммоль) добавляли на протяжении 15 мин к раствору неочищенного 1-(3-бром-2-метилфенил)-2,5-диметил-1H-пиррола (55,7 г, 211 ммоль) в THF (400 мл) при -78°C. Через 30 мин добавляли трет-бутил(R)-4-метил-1,2,3-оксатиазолидин-3-карбоксилат-2,2-диоксид (50 г, 211 ммоль). Полученную смесь перемешивали при -78°C в течение 15 мин и обеспечивали нагревание до комнатной температуры на протяжении 2 ч. Добавляли водный раствор лимонной кислоты (1н.; 250 мл) и перемешивание продолжали в течение 30 мин. Смесь экстрагировали с помощью гексанов

и объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором карбоната натрия, высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученное коричневое твердое вещество, неочищенный трет-бутил(R)-(1-(3-(2,5-диметил-1Н-пиррол-1-ил)-2-метилфенил)пропан-2-ил)карбамат, применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 343$.

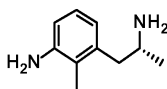
Получение (R)-1-(3-(2,5-диметил-1Н-пиррол-1-ил)-2-метилфенил)пропан-2-амина



Хлористоводородную кислоту в диоксане (4 М; 100 мл, 400 ммоль) добавляли к суспензии неочищенного трет-бутил(R)-(1-(3-(2,5-диметил-1Н-пиррол-1-ил)-2-метилфенил)пропан-2-ил)карбамата в MeOH (200 мл) и DCM (50 мл). Полученный красный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч и затем концентрировали при пониженном давлении. Полученное коричневое твердое вещество применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 243$.

Получение (R)-3-(2-аминопропил)-2-метиланилина

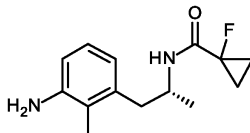


Смесь неочищенного (R)-1-(3-(2,5-диметил-1Н-пиррол-1-ил)-2-метилфенил)пропан-2-амина дигидрохлорида, водного раствора гидроксилamina (50 вес.%; 107 мл, 1,74 моль) и гидроксилamina гидрохлорида (97 г, 1,39 моль) в этаноле (400 мл) нагревали в условиях применения обратного холодильника. Через 18 ч реакционную смесь охлаждали до 0°C, подщелачивали с помощью водного раствора гидроксида натрия (50 вес.%; 153 г, 1,92 моль) и экстрагировали с помощью DCM. Органический слой высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством SFC (колонка DEAP от Princeton Chromatography, 100 мм в длину, 30 мм в диаметре, 5 мкм, температура колонки 40°C, давление в колонке 100 бар, скорость потока 100 мг/мл) с элюированием с помощью 25% метанола, содержащего 0,2% NH_4OH в CO_2 , с получением (R)-3-(2-аминопропил)-2-метиланилина (24 г, 84%) в виде светло-янтарного твердого вещества.

1H ЯМР (500 МГц, DMSO, 27°C) 1,05 (3H, d), 1,99 (3H, s), 2,55 (1H, dd), 2,93 (1H, dd), 3,11- 3,25 (1H, m), 4,77 (2H, s), 6,35 (1H, dd), 6,52 (1H, dd), 6,81 (1H, t).

Протоны NH_2 при алкиле не наблюдали, масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 165$.

Получение (R)-N-(1-(3-амино-2-метилфенил)пропан-2-ил)-1-фторциклопропан-1-карбоксамид

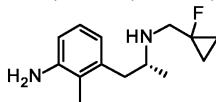


(R)-3-(2-Аминопропил)-2-метиланилин (1,70 г, 10,4 ммоль) растворяли в DMF (29,9 мл) и обрабатывали с помощью 1-фторциклопропан-1-карбоновой кислоты (1,00 г, 9,61 ммоль), HATU (4,02 г, 10,6 ммоль) и TEA (2,68 мл, 19,22 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч, и затем гасили с помощью воды, и экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, высушивали над сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток высушивали под вакуумом в течение ночи с удалением остаточного DMF. Затем остаток адсорбировали на диоксиде кремния и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 80% этилацетата в гексанах, с получением (R)-N-(1-(3-амино-2-метилфенил)пропан-2-ил)-1-фторциклопропан-1-карбоксамид (1,47 г, 61,1%) в виде светло-желтого твердого вещества.

1H ЯМР (300 МГц, DMSO- d_6 , 27°C) 1,01-1,28 (7H, m), 2,02 (3H, s), 2,54-2,62 (1H, m), 2,83 (1H, dd), 3,89-4,16 (1H, m), 4,68 (2H, s), 6,38 (1H, d), 6,49 (1H, d), 6,78 (1H, t), 8,14 (1H, d);

масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 251$.

Получение (R)-3-(2-(((1-фторциклопропил)метил)амино)пропил)-2-метиланилина



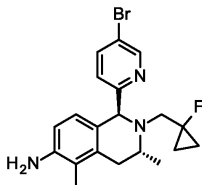
Комплекс боран-тетрагидрофуран в THF (1 М; 35,2 мл, 35,2 ммоль) добавляли к раствору (R)-N-(1-(3-амино-2-метилфенил)пропан-2-ил)-1-фторциклопропан-1-карбоксамид (1,47 г, 5,87 ммоль) в THF (13,7 мл) при комнатной температуре в атмосфере азота. Затем реакционную смесь нагревали при 65°C в течение 6 ч. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и осторожно гасили с помощью MeOH (выделение газа). Затем раствор концентрировали при пониженном давлении и хранили в морозильной камере

в течение 18 ч. Остаток растворяли в MeOH (6 мл) и нагревали при 65°C в течение 3 ч. Раствор охлаждали до комнатной температуры и затем концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 16% метанола в DCM, с получением (R)-3-(2-(((1-фторциклопропил)метил)амино)пропил)-2-метиланилина (1,14 г, 82%) в виде бесцветного масла.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO- d_6 , 27°C) 0,54-0,70 (2H, m), 0,79-1,02 (5H, m), 1,64 (1H, br. s.), 1,99 (3H, s), 2,36 (1H, dd), 2,69-2,97 (4H, m), 4,68 (2H, s), 6,36 (1H, d), 6,49 (1H, d), 6,79 (1H, t);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 237$.

Получение (1S,3R)-1-(5-бромпиридин-2-ил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина

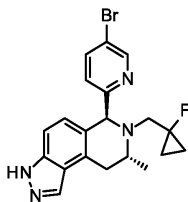


5-Бромпиридинальдегид (507 мг, 2,72 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору (R)-3-(2-(((1-фторциклопропил)метил)амино)пропил)-2-метиланилина (322 мг, 1,36 ммоль) в уксусной кислоте (7028 мкл) и воде (143 мкл). Полученную смесь нагревали до 90°C и перемешивали при данной температуре в течение 5 ч. Смесь концентрировали и растворяли в EtOAc (50 мл) и насыщенном NaHCO_3 (25 мл). Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (2×50 мл). Объединенные органические вещества концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в DCM (20 мл) и 1 М HCl (20 мл). Смесь энергично перемешивали в течение 30 мин. Слои разделяли и водный слой промывали с помощью DCM (20 мл). Водный слой подщелачивали до pH >10 с помощью твердого NaOH. Раствор экстрагировали с помощью DCM (3×25 мл). Объединенные органические вещества высушивали (картридж фазового сепаратора) и концентрировали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 60% EtOAc в гептане. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением (1S,3R)-1-(5-бромпиридин-2-ил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина (217 мг, 39%) в виде желтой смолы.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 0,33-0,47 (1H, m), 0,49-0,6 (1H, m), 0,89-1,01 (2H, m), 1,04 (3H, d), 2,06 (3H, s), 2,55-2,64 (2H, m), 2,92-3,04 (2H, m), 3,51 (2H, s), 3,65-3,72 (1H, m), 4,88 (1H, s), 6,45 (1H, d), 6,58 (1H, d), 7,31 (1H, dd), 7,66 (1H, dd), 8,54 (1H, dd);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 404$.

Получение (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина

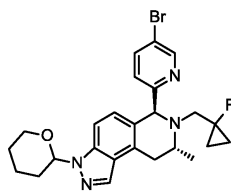


(1S,3R)-1-(5-Бромпиридин-2-ил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (295 мг, 0,73 ммоль) в пропионовой кислоте (8291 мкл) охлаждали до -20°C. Добавляли по каплям нитрит натрия (50,3 мг, 0,73 ммоль) в воде (829 мкл) на протяжении 2-3 мин. Реакционную смесь перемешивали при -20°C в течение 45 мин. Реакционную смесь разбавляли с помощью ледяного EtOAc (30 мл). Реакционную смесь выливали в насыщенный NaHCO_3 (40 мл). Смесь энергично перемешивали в течение 5 мин. Слои разделяли и органический слой промывали насыщенным NaHCO_3 (2×30 мл). Объединенные водные слои снова экстрагировали с помощью EtOAc (2×30 мл). Объединенные органические фазы высушивали (Na_2SO_4) и концентрировали с получением неочищенного продукта в виде коричневого масла. Неочищенный материал очищали посредством колоночной флэш-хроматографии на диоксиде кремния с элюированием с помощью 0-45% EtOAc в гептане с получением (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (107 мг, 35%) в виде оранжевого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 0,35-0,44 (1H, m), 0,51-0,63 (1H, m), 0,92-1,07 (2H, m), 1,09 (2H, d), 2,69 (1H, dd), 2,96 (1H, dd), 3,01-3,10 (1H, m), 3,33-3,49 (2H, m), 3,78-3,89 (1H, m), 5,03 (1H, s), 6,95 (1H, d), 7,19 (1H, d), 7,34-7,39 (1H, m), 7,68 (1H, dd), 8,07 (1H, d), 8,58 (1H, dd);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 415$ и 417.

Получение (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пирин-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3]изохинолина

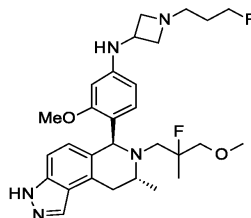


3,4-Дигидро-2H-пиран (0,029 мл, 0,32 ммоль) добавляли к раствору (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (107 мг, 0,26 ммоль) и гидрата 4-метилбензолсульфоновой кислоты (9,80 мг, 0,05 ммоль) в DCM (2 мл) и реакционную смесь нагревали до 45°C в течение 3 ч. Добавляли дополнительное количество 3,4-дигидро-2H-пирана (0,235 мл, 2,58 ммоль) и гидрата 4-метилбензолсульфоновой кислоты (49,0 мг, 0,26 ммоль) и смесь нагревали при 45°C в течение 16 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM и промывали с помощью насыщенного раствора NaHCO₃. Органическую фазу высушивали и выпаривали, затем неочищенное вещество пропускали через пробку из диоксида кремния (EtOAc/гептан 1:1). Фильтрат выпаривали с получением (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина в виде коричневого масла, которое применяли без дополнительной очистки.

Масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 499.

Пример 4.

N-(4-((6S,8R)-7-(2-Фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (диастереоизомерная смесь)



1-(3-Фторпропил)азетидин-3-амин (50 мг, 0,37 ммоль), смесь (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина и (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-2-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-2H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (140 мг, 0,25 ммоль), карбоната цезия (163 мг, 0,50 ммоль) и [(2-дициклогексилфосфино-3,6-диметокси-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил)-2-(2'-амино-1,1'-бифенил)] палладия(II) метансульфоната (BrettPhos Pd G3) (23 мг, 0,02 ммоль) суспендировали в 1,4-диоксане (2 мл) и герметизировали в пробирке для микроволновой обработки. Реакционную смесь нагревали до 100°C в течение 4 ч под воздействием микроволнового излучения. Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM (25 мл) и промывали водой (25 мл). Органический слой выпаривали. Остаток растворяли в DCM (3 мл) и TFA (1 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и затем разделяли между DCM и 2 М NaOH (по 20 мл каждого из них). Органическую фазу выпаривали и неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC (колонок Waters C18 OBD, 5 мкм диоксид кремния, 30 мм в диаметре, 100 мм в длину) с применением смесей воды (содержащей 1% NH₃) и MeCN с уменьшающейся полярностью в качестве элюентов с получением N-(4-((6S,8R)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (26,0 мг, 20%) в виде смолы, представляющей собой смесь диастереоизомеров.

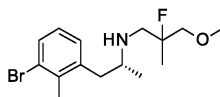
¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 0,94-0,99 (3H, m), 1,16-1,24 (3H, m), 1,64 (2H, dq), 2,39-2,47 (3H, m), 2,70 (2H, t), 2,74-2,84 (2H, m), 3,03-3,21 (2H, m), 3,24 (3H, d), 3,48 (2H, dd), 3,58-3,64 (2H, m), 3,79 (3H, d), 3,88-3,94 (1H, m), 4,44 (2H, dt), 5,17 (1H, d), 5,88 (1H, td), 5,97 (1H, dd), 6,16 (1H, d), 6,32-6,38 (1H, m), 6,63 (1H, t), 7,16 (1H, dd), 8,02 (1H, s), 12,91 (1H, s);

¹⁹F ЯМР (471 МГц, DMSO-d₆, 27°C) -218,19, -149,21, -148,22;

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 528.

Получали смесь (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина и (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-2-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-2H-пиразоло[4,3-f]изохинолина следующим образом.

Получение диастереоизомерной смеси N-((R)-1-(3-бром-2-метилфенил)пропан-2-ил)-2-фтор-3-метокси-2-метилпропан-1-амин



Ангидрид трифторметансульфоновой кислоты (2,148 мл, 12,79 ммоль) добавляли к ((2-фтор-3-метокси-2-метилпропокси)метантриил)трибензолу (4,44 г, 12,18 ммоль), растворенному в дихлорметане (50 мл), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем добавляли триэтилсилан (2,140 мл, 13,40 ммоль) и смесь перемешивали в течение дополнительных 30 мин. Реакционную смесь концентрировали с получением неочищенного рацемического 2-фтор-3-метокси-2-метилпропилтрифторметансульфоната, который применяли непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки.

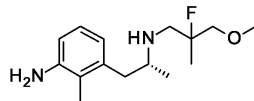
Добавляли DIPEA (5,36 мл, 30,68 ммоль) к (R)-1-(3-бром-2-метилфенил)пропан-2-амину (2,80 г, 12,3 ммоль) и 2-фтор-3-метокси-2-метилпропилтрифторметансульфонату (3,12 г, 12,3 ммоль) в 1,4-диоксане (60 мл) при комнатной температуре в атмосфере азота [экзотермический эффект]. Полученную смесь перемешивали при 85°C в течение 24 ч. Обеспечивали охлаждение реакционной смеси и реакционную смесь выпаривали. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 60% EtOAc в гептане, с получением N-((R)-1-(3-бром-2-метилфенил)пропан-2-ил)-2-фтор-3-метокси-2-метилпропан-1-амина (2,480 г, 73%) в виде масла, представляющего собой смесь диастереоизомеров.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,02-1,07 (3H, m), 1,31 (1,5H, d), 1,32 (1,5H, d), 2,41 (3H, s), 2,57-2,66 (1H, m), 2,68-2,90 (4H, m), 3,34 (1,5H, d), 3,35 (1,5H, d), 3,38-3,46 (2H, m), 6,96 (1H, t), 7,07 (1H, d), 7,42 (1H, d);

NH не наблюдали ^{19}F ЯМР (471 МГц, CDCl_3 , 27°C) -157,94, -157,53;

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 332/334$.

Получение диастереоизомерной смеси 3-((R)-2-((2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)амино)пропил)-2-метиланилина



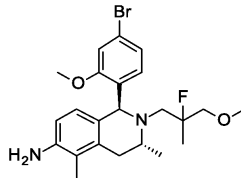
трис-(Дибензилиденацетон)диалладий(0) (0,205 г, 0,22 ммоль) и ($\pm$)-2,2'-бис-(дифенилфосфино)-1,1'-бинафталин (0,279 г, 0,45 ммоль) добавляли к суспензии диастереоизомерной смеси N-((R)-1-(3-бром-2-метилфенил)пропан-2-ил)-2-фтор-3-метокси-2-метилпропан-1-амина (2,48 г, 7,46 ммоль), бензофенонимина (1,487 г, 8,21 ммоль) и трет-бутоксид натрия (1,076 г, 11,20 ммоль) в дегазированном толуоле (30 мл) и реакционную смесь нагревали до 90°C в течение 3 ч. После охлаждения толуол выпаривали. Остаток растворяли в DCM (250 мл) и промывали водой (250 мл). Водный слой экстрагировали с помощью DCM (100 мл) и объединенные органические вещества концентрировали до приблизительно 50 мл. Добавляли 2 М раствор HCl (50 мл) и двухфазную смесь энергично перемешивали в течение 30 мин. Слои разделяли и водную фазу экстрагировали с помощью DCM. Водную фазу подщелачивали с помощью 2 М водного раствора NaOH. Полученное экстрагировали с помощью DCM (2 $\times$ 250 мл) и объединенные экстракты в DCM выпаривали с получением 3-((R)-2-((2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)амино)пропил)-2-метиланилина (2,00 г, 100%) в виде масла, представляющего собой смесь диастереоизомеров.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,04 (3H, d), 1,31 (1,5H, d), 1,32 (1,5H, d), 2,11 (3H, s), 2,53-2,60 (1H, m), 2,70-2,89 (4H, m), 3,35 (2H, d), 3,36 (1,5H, d), 3,43 (1,5H, dd), 3,58 (2H, s), 6,57 (1H, d), 6,61 (1H, d), 6,94 (1H, t), 7,58 (1H, s);

^{19}F ЯМР (471 МГц, CDCl_3 , 27°C) -157,61, -157,30.

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 269$.

Получение диастереоизомерной смеси (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-2-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина



Диастереоизомерную смесь 3-((2R)-2-((2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)амино)пропил)-2-метиланилина (2,00 г, 7,45 ммоль) и 4-бром-2-метоксифенальдегида (3,37 г, 15,6 ммоль) нагревали в уксусной кислоте (30 мл) и воде (0,671 мл, 37,3 ммоль) до 70°C в течение ночи. После охлаждения уксусную кислоту выпаривали. Остаток растворяли в EtOAc (40 мл) и добавляли 2н. раствор HCl (40 мл). Двухфазную смесь перемешивали в течение 30 мин, затем слои разделяли. Органическую фазу экстрагировали с помощью воды, затем объединенные водные фазы подщелачивали путем добавления 2н. раствора NaOH и экстрагировали с помощью DCM (2 $\times$ 200 мл). Объединенные слои DCM выпаривали и неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 50% EtOAc в гептане с получением сначала (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-2-(2-фтор-

3-метокси-2-метилпропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (0,354 г, 10%) в виде одного диастереоизомера.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6 , 27°C) 0,91 (3H, d), 1,22 (3H, d), 1,94 (3H, s), 2,26-2,40 (2H, m), 2,65-2,78 (2H, m), 3,16-3,25 (4H, m), 3,42 (1H, dd), 3,85 (3H, s), 4,61 (2H, s), 5,10 (1H, s), 6,24 (1H, d), 6,37 (1H, d), 6,61 (1H, d), 6,95 (1H, dd), 7,15 (1H, d).

Один протон частично перекрыт водой.

^{19}F ЯМР (471 МГц, DMSO-d_6 , 27°C) -149,65;

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 465/467$.

Затем получали фракции, содержащие смесь диастереоизомеров (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-2-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (1,700 г, 49%).

^{19}F ЯМР (471 МГц, DMSO-d_6 , 27°C) -149,65, -148,78;

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 465/467$.

Затем получали фракции, содержащие второй диастереоизомер (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-2-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (0,274 г, 8%) в виде одного диастереоизомера.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6 , 27°C) 0,91 (3H, d), 1,16 (3H, d), 1,93 (3H, s), 2,26-2,4 (2H, m), 2,63-2,74 (2H, m), 3,23 (3H, s), 3,35 (1H, dd), 3,47 (1H, dd), 3,85 (3H, s), 4,60 (2H, s), 5,09 (1H, s), 6,24 (1H, d), 6,37 (1H, d), 6,61 (1H, d), 6,93 (1H, dd), 7,15 (1H, d).

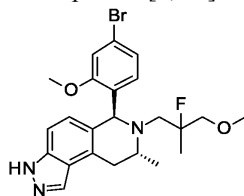
Один протон перекрыт водой.

^{19}F ЯМР (471 МГц, DMSO-d_6 , 27°C) -148,78;

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 465/467$.

Все в виде смол.

Получение диастереоизомерной смеси (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина



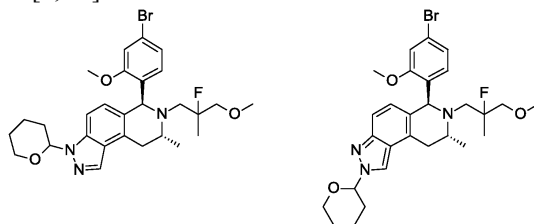
Раствор нитрита натрия (0,277 г, 4,02 ммоль) в воде (1,0 мл) добавляли к раствору диастереоизомерной смеси (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-2-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (1,70 г, 3,65 ммоль) в пропионовой кислоте (15 мл) при -10°C . Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч, затем добавляли ледяной EtOAc (20 мл). Реакционную смесь гасили путем добавления водного раствора NaHCO_3 (30 мл) и перемешивали в течение 15 мин перед тем, как обеспечивали нагревание до комнатной температуры. Органическую фазу промывали водным раствором NaHCO_3 (30 мл) и соевым раствором (20 мл), высушивали (Na_2SO_4), фильтровали и выпаривали. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 50% EtOAc в гептане, с получением (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (0,950 г, 55%) в виде коричневого твердого вещества, представляющего собой смесь диастереоизомеров.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6 , 27°C) 0,95-0,97 (3H, m), 1,14-1,23 (3H, m), 2,31-2,40 (1H, m), 2,78-2,88 (2H, m), 3,11-3,21 (2,5H, s), 3,23 (1,5H, s), 3,32-3,38 (1H, m), 3,40-3,52 (2H, m), 3,88 (1,5H, s), 3,89 (1,5H, s), 5,28 (1H, s), 6,59-6,69 (2H, m), 6,92-6,96 (1H, m), 7,16-7,22 (2H, m), 8,05 (1H, s), 12,96 (1H, s);

^{19}F ЯМР (471 МГц, DMSO-d_6 , 27°C) -149,65, -148,68;

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 476/478$.

Получение смеси (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина и (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-2-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-2H-пиразоло[4,3-f]изохинолина



Гидрат 4-метилбензолсульфоновой кислоты (0,038 г, 0,20 ммоль) добавляли к раствору диастереоизомерной смеси (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-

6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (0,950 г, 1,99 ммоль) и 3,4-дигидро-2H-пирана (0,546 мл, 5,98 ммоль) в DCM (30 мл) и смесь нагревали при 40°C в течение ночи. Добавляли дополнительное количество 3,4-дигидро-2H-пирана (0,546 мл, 5,98 ммоль) и гидрата 4-метилбензолсульфоновой кислоты (0,038 г, 0,20 ммоль). Нагревание продолжали в течение 7 ч. Добавляли дополнительные порции 3,4-дигидро-2H-пирана (0,546 мл, 5,98 ммоль) и гидрата 4-метилбензолсульфоновой кислоты (0,038 г, 0,20 ммоль) и реакционную смесь нагревали в течение ночи. Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM (50 мл) и промывали с помощью насыщенного водного раствора NaHCO_3 (50 мл).

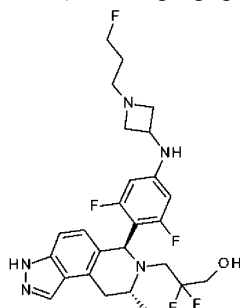
Органическую фазу выпаривали до получения темно-коричневого масла и неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 35% EtOAc в гептане, с получением смеси (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина и (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-2-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-2H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (0,960 г, 86%) в виде пены, представляющей собой смесь диастереоизомеров.

^{19}F ЯМР (471 МГц, DMSO-d_6 , 27°C) -149,79, -149,74, -149,69, -149,65, -148,77, -148,73, -148,69, -148,66;

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 560/562$.

Пример 5.

3-((6S,8R)-6-(2,6-Дифтор-4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)фенил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)-2,2-дифторпропан-1-ол



TBAF в THF (1 М; 160 мкл, 0,16 ммоль) добавляли к раствору N-(4-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (80 мг, 0,10 ммоль) в THF (0,5 мл) при комнатной температуре. Через 4 ч реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 30 до 90% (10% MeOH в DCM, содержащем 1% NH_4OH) в DCM. Фракции с продуктом концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток повторно очищали с применением аналогичных условий. Фракции с продуктом снова концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток очищали посредством препаративной HPLC (колонка Waters XBridge Prep C18 OBD, 5 мкм диоксид кремния, 19 мм в диаметре, 100 мм в длину) с применением смесей воды (содержащей 0,2% гидроксида аммония) и MeCN с уменьшающейся полярностью в качестве элюентов (от 40 до 70% на протяжении 7 мин.) с получением 3-((6S,8R)-6-(2,6-дифтор-4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)фенил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)-2,2-дифторпропан-1-ола (17 мг, 31%) в виде белого твердого вещества.

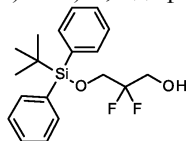
^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6 , 27°C) 1,02 (3H, d), 1,59-1,69 (2H, m), 2,44 (2H, t), 2,56-2,67 (1H, m), 2,72 (2H, t), 2,88 (1H, dd), 3,02-3,13 (1H, m), 3,17 (1H, dd), 3,49-3,56 (1H, m), 3,57-3,69 (3H, m), 3,91 (1H, tdt), 4,44 (2H, dt), 5,08 (1H, s), 5,25 (1H, br. s), 6,07 (2H, d), 6,64 (1H, d), 6,69 (1H, d), 7,20 (1H, d), 8,04 (1H, s), 12,95 (1H, br. s).

Один Н не наблюдали,

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 524$.

N-(4-((6S,8R)-7-(3-((трет-Бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин получали следующим образом.

Получение 3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропан-1-ола

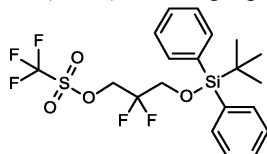


NaN в минеральном масле (60 вес.%; 343 мг, 8,58 ммоль) добавляли одной порцией к перемешиваемому раствору 2,2-дифторпропан-1,3-диола (874 мг, 7,80 ммоль) в THF (32 мл) при 0°C. Обеспечивали

нагревание реакционной смеси до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь снова нагревали до 0°C и добавляли по каплям трет-бутилдифенилхлорсилан (2,0 мл, 7,8 ммоль) с помощью шприца. Обеспечивали нагревание реакционной смеси до комнатной температуры на протяжении 1 ч и затем ее гасили с помощью воды, и экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой высушивали с помощью Na₂SO₄, фильтровали и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния с элюированием с помощью изократического 5% этилацетата в гексанах с получением 3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропан-1-ола (1,94, 71%) в виде бесцветного масла.

¹H ЯМР (300 МГц, ХЛОРОФОРМ-d, 27°C) δ ppm 1,03-1,14 (9H, s), 3,87-3,93 (4H, m), 7,37-7,44 (6H, m), 7,64-7,66 (4H, m).

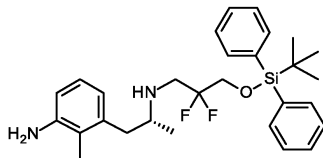
Получение 3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропилтрифторметансульфоната



Раствор 3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропан-1-ола (1,94 г, 5,55 ммоль) и 2,6-диметилпиридина (1,94 мл, 16,6 ммоль) в DCM (18 мл) охлаждали до -10°C (соль/ледяная баня). Ангидрид трифторметансульфоновой кислоты (1,88 мл, 11,1 ммоль) медленно добавляли по каплям на протяжении 10 мин. Реакционную смесь поддерживали при таких условиях в течение 2 ч. Затем реакционную смесь промывали водой, водным раствором HCl (1н.; 100 мл) и насыщенным водным раствором бикарбоната натрия. Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением 3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропилтрифторметансульфоната (2,68 г, 100%) в виде красного масла.

¹H ЯМР (300 МГц, ХЛОРОФОРМ-d, 27°C) 1,03-1,14 (9H, s), 3,90 (2H, t), 4,76 (2H, t), 7,39-7,56 (6H, m), 7,59-7,75 (4H, m).

Получение 3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропилтрифторметансульфоната

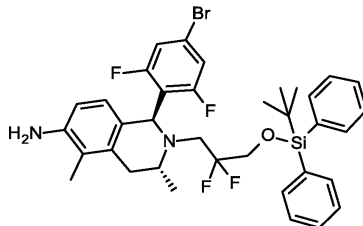


3-((трет-Бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропилтрифторметансульфонат (1,92 г, 3,98 ммоль) добавляли к раствору (R)-3-(2-аминопропил)-2-метиланилина (0,784 г, 4,77 ммоль) и DIPEA (1,031 мл, 5,97 ммоль) в 1,4-диоксане (15 мл). Реакционную смесь нагревали при 85°C в течение 18 ч. После охлаждения реакционную смесь разбавляли с помощью DCM и промывали водой. Водный слой экстрагировали с помощью DCM, и объединенные органические слои высушивали над сульфатом магния, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 4% метанольного раствора аммиака в DCM. Чистые фракции концентрировали до сухого состояния с получением (R)-3-(2-((3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)амино)пропил)-2-метиланилина (1,97 г, 100%) в виде желтого масла.

¹H ЯМР (300 МГц, МЕТАНОЛ-d₄, 27°C) δ ppm 0,97-1,12 (12H, m), 2,10 (3H, s), 2,53-2,63 (1H, m), 2,74-2,84 (1H, m), 2,86-2,99 (1H, m), 3,00-3,19 (2H, m), 3,80 (2H, td), 6,53 (1H, d), 6,63 (1H, d), 6,86 (1H, t), 7,38-7,50 (6H, m), 7,64-7,72 (4H, m);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 497.

Получение (1S,3R)-1-(4-бром-2,6-дифторфенил)-2-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин



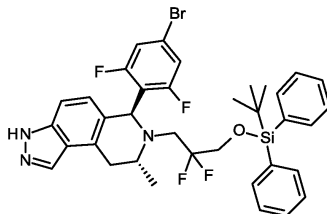
4-Бром-2,6-дифторбензальдегид (1,55 г, 7,02 ммоль) добавляли к раствору (R)-3-(2-((3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)амино)пропил)-2-метиланилина (1,74 г, 3,51 ммоль) в уксусной кислоте (17 мл) и воде (0,32 мл, 18 ммоль) и реакционную смесь нагревали при 80°C в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток разделяли между

EtOAc и насыщенным водным раствором NaHCO_3 . Органический слой концентрировали при пониженном давлении и очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 20 до 80% этилацетата в гексанах с получением (1S,3R)-1-(4-бром-2,6-дифторфенил)-2-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (1,33 г, 54,5%) в виде твердого вещества.

^1H ЯМР (300 МГц, ХЛОРОФОРМ- d , 27°C) δ ppm 1,04-1,11 (12H, m), 2,25-2,38 (3H, m), 2,53-2,65 (1H, m), 2,73 (1H, q), 2,86-3,03 (1H, m), 3,15-3,38 (1H, m), 3,52-3,71 (2H, m), 3,85-4,01 (1H, m), 5,31 (1H, d), 6,58-6,64 (1H, m), 6,67-6,73 (1H, m), 6,88-6,95 (2H, m), 7,18-7,24 (2H, m), 7,37-7,50 (6H, m), 7,60-7,70 (4H, m);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 699$.

Получение (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3- f]изохинолина



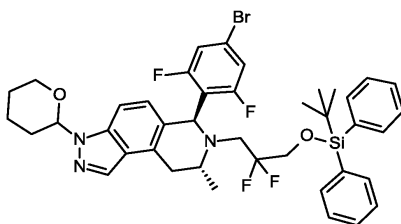
Нитрит натрия (0,130 г, 1,89 ммоль) в воде (0,900 мл) добавляли по каплям к раствору (1S,3R)-1-(4-бром-2,6-дифторфенил)-2-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (1,32 г, 1,89 ммоль) в пропионовой кислоте (9 мл) при -8°C (соль/ледяная баня) и перемешивали при таких условиях в течение 20 мин. Реакционную смесь разбавляли с помощью этилацетата (20 мл, предварительно охлажденного до -10°C) и гасили путем медленного добавления насыщенного водного раствора NaHCO_3 (30 мл, предварительно охлажденный до -10°C) на протяжении 15 мин при 0°C. Обеспечивали нагревание смеси до комнатной температуры и поддерживали при таких условиях в течение 18 ч. Органический слой отделяли, и водный слой экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические слои промывали с помощью насыщенного водного раствора NaHCO_3 и воды, высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 15 до 50% этилацетата в гексанах, с получением (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3- f]изохинолина (0,520 г, 38,8%) в виде светло-коричневого твердого вещества.

^1H ЯМР (300 МГц, ХЛОРОФОРМ- d , 27°C) δ ppm 1,07 (9H, s), 1,12 (3H, d), 2,72-2,92 (2H, m), 3,21-3,39 (2H, m), 3,51-3,66 (1H, m), 3,67-3,79 (1H, m), 3,86-4,00 (1H, m), 5,37 (1H, s), 6,81 (1H, d), 6,87-6,98 (2H, m), 7,25-7,29 (1H, m), 7,35-7,50 (6H, m), 7,59-7,70 (4H, m), 8,14 (1H, s).

NH индола не наблюдали,

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 710$.

Получение (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3- f]изохинолина

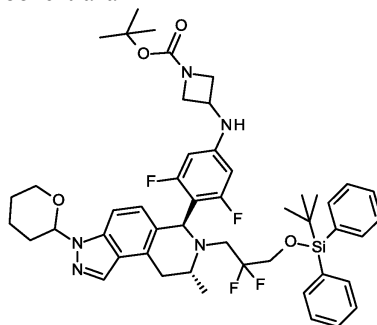


3,4-Дигидро-2Н-пиран (95 мкл, 1,04 ммоль) добавляли к раствору (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3- f]изохинолина (492 мг, 0,69 ммоль) и моногидрата пара-толуолсульфоновой кислоты (13 мг, 0,07 ммоль) в DCM (3,5 мл) и реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение 6 ч. После охлаждения реакционную смесь промывали насыщенным водным раствором NaHCO_3 , высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 10 до 30% этилацетата в гексанах, с получением (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3- f]изохинолина (474 мг, 86%) в виде светло-коричневого смолистого твердого вещества.

^1H ЯМР (300 МГц, ХЛОРОФОРМ- d , 27°C) 1,06 (9H, s), 1,19-1,25 (3H, m), 1,74-1,84 (3H, m), 2,09-2,20 (2H, m), 2,49-2,67 (1H, m), 2,84-2,96 (2H, m), 3,27-3,45 (2H, m), 3,61-3,87 (3H, m), 4,04 (2H, d), 5,52 (1H, s), 5,66-5,72 (1H, m), 6,78 (1H, d), 6,94 (2H, d), 7,32 (1H, d), 7,36-7,50 (6H, m), 7,60-7,68 (4H, m), 8,04

(1H, s).

Получение трет-бутил-3-((4-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)амино)азетидин-1-карбоксилата



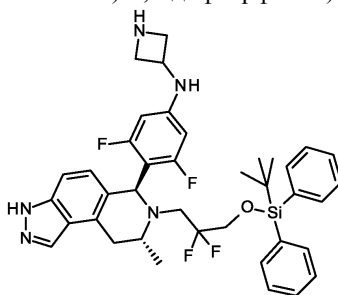
Дегазированную смесь (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (0,474 г, 0,600 ммоль), трет-бутил-3-аминоазетидин-1-карбоксилата (0,15 г, 0,89 ммоль), Xantphos (0,069 г, 0,12 ммоль), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,06 г, 0,06 ммоль) и карбоната цезия (0,389 г, 1,19 ммоль) в диоксане (3 мл) нагревали при 115°C в течение 4 ч. Затем реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток адсорбировали на силикагеле и очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 5 до 50% этилацетата в гексанах, с получением трет-бутил-3-((4-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)амино)азетидин-1-карбоксилата (0,377 г, 71,3%) в виде твердого вещества.

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,06 (9H, s), 1,12 (3H, d), 1,46 (9H, s), 1,65-1,84 (3H, m), 2,07-2,23 (2H, m), 2,58 (1H, d), 2,75-2,91 (2H, m), 3,16-3,34 (2H, m), 3,52-3,78 (5H, m), 3,91-4,07 (3H, m), 4,19-4,29 (2H, m), 5,23-5,34 (1H, m), 5,67 (1H, dd), 5,81 (2H, d), 6,81 (1H, d), 7,25-7,29 (1H, m), 7,35-7,48 (6H, m), 7,65 (4H, ddd), 8,02 (1H, s).

NH анилина не наблюдали,

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 886$.

Получение N-(4-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)азетидин-3-амин



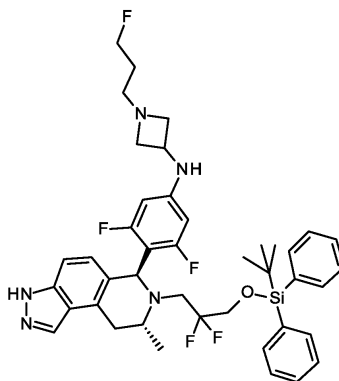
TFA (328 мкл, 4,25 ммоль) медленно добавляли к раствору трет-бутил-3-((4-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)амино)азетидин-1-карбоксилата (377 мг, 0,43 ммоль) в DCM (2 мл) при 0°C. Обеспечивали нагревание реакционной смеси до комнатной температуры и перемешивали при таких условиях в течение 1 ч. Затем реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток разделяли между этилацетатом и насыщенным водным раствором NaHCO_3 . Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 30 до 70% (10% метанол в DCM, содержащем 1% гидроксида аммония) в DCM, с получением N-(4-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)азетидин-3-амин (166 мг, 55,6%) в виде бледного твердого вещества.

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3 , 27°C) 0,96-1,20 (12H, m), 2,62-3,03 (2H, m), 3,10-3,42 (2H, m), 3,42-3,63 (3H, m), 3,63-3,80 (2H, m), 3,81-4,08 (3H, m), 4,15-4,28 (1H, m), 4,38 (1H, d), 5,23 (1H, s), 5,83 (2H, m), 6,80 (1H, m), 7,15 (1H, d), 7,32-7,53 (6H, m), 7,61-7,81 (4H, m), 8,06 (1H, s).

NH индазола не наблюдали,

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 702$.

Получение N-(4-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин

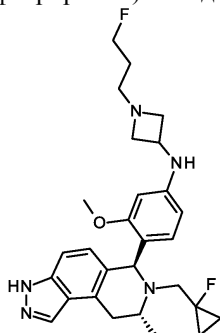


1-Фтор-3-йодпропан (40 мг, 0,21 ммоль) добавляли к раствору N-(4-(((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)азетидин-3-амин (144 мг, 0,21 ммоль) и DIPEA (107 мкл, 0,62 ммоль) в DMF (1 мл) при температуре окружающей среды. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч, а затем разбавляли с помощью EtOAc (40 мл) и промывали с помощью насыщенного водного раствора хлорида натрия (3×20 мл). Органические слои высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 15 до 30% (10% метанол в DCM, содержащем 1% гидроксида аммония) в DCM, с получением N-(4-(((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (87 мг, 56%) в виде желтого твердого вещества.

Масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 762.

Пример 6.

N-(4-(((6S,8R)-7-((1-Фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин



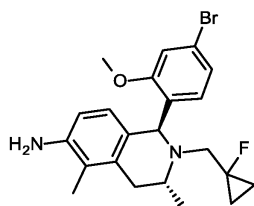
1-Фтор-3-йод пропан (40,9 мкл, 0,39 ммоль) добавляли к раствору N-(4-(((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)азетидин-3-амин (169 мг, 0,39 ммоль) и DIPEA (203 мкл, 1,16 ммоль) в NMP (1,7 мл) при комнатной температуре. Через 18 ч реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии с обращенной фазой (C 18) с элюированием с помощью смесей воды (содержащей 0,2% гидроксида аммония) и MeCN с уменьшающейся полярностью в качестве элюентов. Фракции с продуктом объединяли и лиофилизировали с получением N-(4-(((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (75 мг, 39%) в виде прозрачного остатка.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 0,39-0,46 (1H, m), 0,47-0,54 (1H, m), 0,77-0,85 (2H, m), 0,91 (3H, d), 1,51-1,64 (2H, m), 2,38 (2H, t), 2,54 (1H, dd), 2,63 (2H, q), 2,75-2,90 (2H, m), 3,14 (1H, dd), 3,52-3,64 (3H, m), 3,73 (3H, s), 3,79-3,88 (1H, m), 4,38 (2H, dt), 5,10 (1H, s), 5,82-5,87 (1H, m), 5,91 (1H, d), 6,09 (1H, d), 6,49 (1H, d), 6,57 (1H, d), 7,07 (1H, d), 7,94 (1H, s), 12,83 (1H, s);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 496.

N-(4-(((6S,8R)-7-((1-Фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)азетидин-3-амин получали следующим образом.

Получение (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин

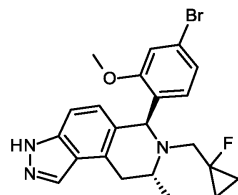


(R)-3-(2-(((1-Фторциклопропил)метил)амино)пропил)-2-метиланилин (451 мг, 1,91 ммоль) и 4-бром-2-метоксибензальдегид (410 мг, 1,91 ммоль) в смеси воды (172 мг, 9,54 ммоль) и уксусной кислоты (7,5 мл) нагревали при 80°C в течение 6 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток обрабатывали с помощью водного раствора HCl (1н.; 18 мл). Смесь перемешивали при 80°C в течение 18 ч. Затем реакционную смесь охлаждали и добавляли насыщенный водный раствор NaHCO₃. Смесь экстрагировали с помощью DCM и органический слой концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 5 до 35% этилацетата в гексанах, с получением (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (591 мг, 71,5%) в виде смолистой пленки.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 0,42-0,61 (2H, m), 0,81-0,91 (2H, m), 0,93 (3H, d), 1,93 (3H, s), 2,43-2,48 (2H, m), 2,72-2,89 (2H, m), 3,48-3,57 (1H, m), 3,87 (3H, s), 4,57 (2H, s), 5,12 (1H, s), 6,24 (1H, d), 6,35 (1H, d), 6,82 (1H, d), 6,96 (1H, d), 7,16 (1H, d);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 433.

Получение (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина

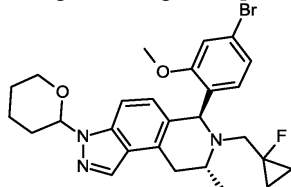


Уксусную кислоту (0,392 мл, 6,84 ммоль) добавляли к (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амину (0,593 г, 1,37 ммоль) в CHCl₃ (5 мл) и полученный раствор охлаждали до 0°C. К реакционной смеси добавляли по каплям изопентилнитрит (0,321 г, 2,74 ммоль) в CHCl₃ (1 мл) и реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение еще 2 ч. Затем медленно добавляли насыщенный водный раствор NaHCO₃ (1 г в 20 мл воды). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 10 мин и затем слои разделяли. Органический слой очищали посредством колоночной флэш-хроматографии с градиентом элюирования от 5 до 35% этилацетата в гексанах с получением (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (0,299 г, 49,2%) в виде светло-коричневого твердого вещества.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆, 27°C) δ ppm 0,39-0,65 (2H, m), 0,77-0,96 (2H, m), 1,00 (3H, d), 2,52-2,63 (1H, m), 2,87-3,03 (2H, m), 3,21-3,28 (1H, m), 3,71 (1H, d), 3,92 (3H, s), 5,31 (1H, s), 6,65 (1H, d), 6,86-6,92 (1H, m), 6,97 (1H, m), 7,18 (1H, d), 7,23 (1H, d), 8,05 (1H, s), 12,94 (1H, s);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 444.

Получение (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина

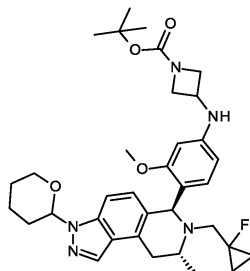


3,4-Дигидро-2H-пиран (176 мкл, 1,93 ммоль) добавляли к раствору (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (286 мг, 0,64 ммоль) и моногидрата пара-толуолсульфоновой кислоты (12 мг, 0,060 ммоль) в DCM (2,5 мл). Реакционную смесь подвергали условиям воздействия микроволнового излучения (100°C, 300 ватт) в течение 6 ч. При охлаждении реакционную смесь промывали насыщенным водным раствором NaHCO₃, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 10 до 30% этилацетата в гексанах, с получением (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (0,299 г, 49,2%) в виде светло-коричневого твердого вещества.

f]изохинолина (299 мг, 88%) в виде светло-коричневого смолистого твердого вещества.

Масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 528$.

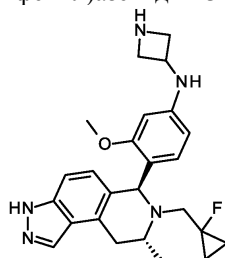
Получение трет-бутил-3-((4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)амино)азетидин-1-карбоксилата



(6S,8R)-6-(4-Бром-2-метоксифенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин (278 мг, 0,53 ммоль), трет-бутил-3-аминоазетидин-1-карбоксилат (136 мг, 0,79 ммоль), карбонат цезия (343 мг, 1,05 ммоль) и прекатализатор 3-го поколения BrettPhos (24 мг, 0,030 ммоль) в диоксане (2,5 мл) подвергали условиям воздействия микроволнового излучения (100°C, 300 Вт) в течение 6 ч. Затем реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток адсорбировали на силикагеле перед очисткой с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 20 до 60% этилацетата в гексанах, с получением трет-бутил-3-((4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)амино)азетидин-1-карбоксилата (296 мг, 91%);

масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 620$.

Получение N-(4-(6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)азетидин-3-амина

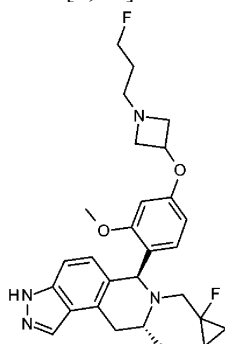


HCl диоксан (4 M; 1,2 мл, 4,78 ммоль) добавляли по каплям к раствору трет-бутил-3-((4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)амино)азетидин-1-карбоксилата (296 мг, 0,48 ммоль) в MeOH (3,5 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение ночи реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток растворяли в MeOH (2 мл). Затем данный раствор загружали на ионообменный картридж SCX-2, который предварительно обрабатывали метанолом. Картридж промывали метанолом и затем 7н. аммиаком в метаноле. Фракции с продуктом концентрировали при пониженном давлении с получением N-(4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)азетидин-3-амина (181 мг, 87%) в виде бледного твердого вещества.

Масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 436$.

Пример 7

(6S,8R)-7-((1-Фторциклопропил)метил)-6-(4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)-2-метоксифенил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин



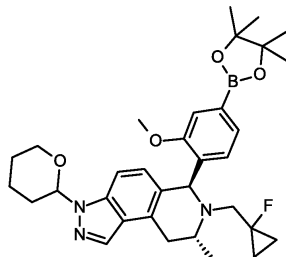
1-Фтор-3-йодпропан (5,79 мкл, 0,05 ммоль) добавляли к раствору соли трифторуксусной кислоты и (6S,8R)-6-(4-(азетидин-3-илокси)-2-метоксифенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолина (0,030 г, 0,050 ммоль) и DIPEA (0,029 мл, 0,16 ммоль) в NMP (0,52 мл) при комнатной температуре. Через 3 ч реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (40 мл) и промывали с помощью насыщенного водного раствора хлорида натрия (3×20 мл). Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 15 до 30% (MeOH в DCM, содержащем 1% гидроксида аммония) в DCM, с получением (6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-6-(4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)-2-метоксифенил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолина (5 мг, 18%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, Метанол- d_4 , 26°C) 0,45-0,56 (2H, m), 0,85-1,03 (2H, m), 1,12 (3H, d), 1,67-1,81 (2H, m), 2,50-2,62 (1H, m), 2,61-2,68 (2H, m), 2,92 (1H, dd), 3,08-3,21 (3H, m), 3,25-3,28 (1H, m), 3,70-3,84 (3H, m), 3,86-3,91 (3H, m), 4,45 (2H, dt), 4,73-4,82 (1H, m), 5,49 (1H, br. s), 6,19 (1H, d), 6,50 (1H, br. s), 6,72 (1H, d), 6,79 (1H, d), 7,18 (1H, d), 8,05 (1H, s).

NH индазола не наблюдали,
масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 497$.

Соль трифторуксусной кислоты и N-(4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)азетидин-3-амин получают следующим образом.

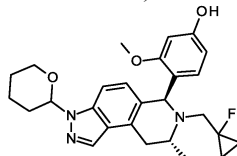
Получение (6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-6-(2-метокси-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолина



Смесь (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолина (369 мг, 0,70 ммоль; полученного в соответствии с примером 6), бис-(пинаколато)дибора (266 мг, 1,05 ммоль), [1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (51 мг, 0,070 ммоль) и ацетата калия (233 мг, 2,37 ммоль) в диоксане (3,50 мл) дегазировали и продували азотом. Затем реакционную смесь нагревали до 80°C. После перемешивания при таких условиях в течение 18 ч реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через подушку из Celite® и промывали с помощью EtOAc (100 мл). Фильтрат промывали водой (100 мл), водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (2×70 мл) и объединенные органические слои промывали водой (3×70 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл) перед тем, как их высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 25% этилацетата в гексане, с получением (6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-6-(2-метокси-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолина (186 мг, 46,3%) в виде желтого твердого вещества.

Масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 576$.

Получение 4-((6S,8R)-7-((1-Фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенола

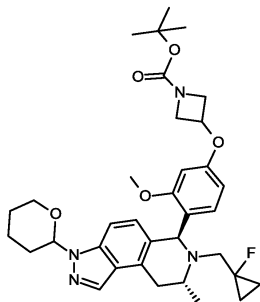


Водный раствор пероксида водорода (33%; 75 мкл, 0,74 ммоль) добавляли по каплям к перемешиваемому раствору (6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-6-(2-метокси-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолина (186 мг, 0,32 ммоль) и водному раствору гидроксида натрия (1 М; 350 мкл, 0,32 ммоль) в THF (2,5 мл) при 5°C в атмосфере воздуха. Полученную смесь перемешивали при 5°C в течение 5 мин. Затем реакционную смесь разбавляли водой (50 мл) и DCM (100 мл). Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью DCM (2×50 мл). Объединенные органические слои высушивали над сульфатом

натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 20 до 50% этилацетата в гексанах, с получением 4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенола (94 мг, 62,5%) в виде желтого твердого вещества.

Масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 466$.

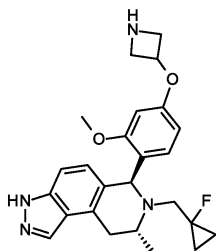
Получение трет-бутил-3-(4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифеноксид)азетидин-1-карбоксилата



Диэтил-(Е)-диацен-1,2-дикарбоксилат (88 мг, 0,20 ммоль) добавляли к раствору 4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенола (94 мг, 0,20 ммоль), трет-бутил-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилата (35 мг, 0,20 ммоль), трифенилфосфина (53 мг, 0,20 ммоль) и толуола (2,03 мл). Затем реакционную смесь нагревали до 110°C. Через 15 ч реакционную смесь охлаждали, концентрировали при пониженном давлении и очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 30% этилацетата в гексанах, с получением трет-бутил-3-(4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифеноксид)азетидин-1-карбоксилата (95 мг, 75%);

масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 621$.

Получение соли трифторуксусной кислоты и трет-бутил-3-(4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифеноксид)азетидин-1-карбоксилата



HCl в диоксане (4н.; 383 мкл, 1,53 ммоль) добавляли по каплям к раствору трет-бутил-3-(4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифеноксид)азетидин-1-карбоксилата (95 мг, 0,15 ммоль) в MeOH (1 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии с обращенной фазой с применением смесей воды (содержащей 0,01% TFA) и MeCN с уменьшающейся полярностью в качестве элюентов (от 20 до 80%) с получением (6S,8R)-6-(4-(азетидин-3-илокси)-2-метоксифенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (30 мг, 36%) в виде соли TFA.

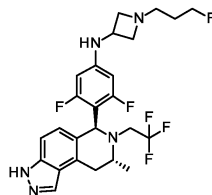
1H ЯМР (300 МГц, МЕТАНОЛ- d_4 , 27°C) 0,86-1,09 (2H, m), 1,26-1,52 (3H, m), 1,59 (3H, d), 3,22-3,31 (1H, m), 3,36-3,47 (1H, m), 3,66 (1H, dd), 4,03 (3H, s), 4,07-4,27 (4H, m), 4,52-4,62 (2H, m), 5,14-5,27 (1H, m), 6,33 (1H, dd), 6,57-6,63 (1H, m), 6,68 (1H, d), 6,75 (1H, s), 6,93 (1H, d), 7,50 (1H, d), 8,23 (1H, s).

NH индазола и дополнительный Н не наблюдали,

масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 437$.

Пример 8.

N-[3,5-Дифтор-4-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил]-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин



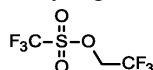
1-Фтор-3-йодпропан (5,4 мкл, 0,050 ммоль) и диизопропилэтиламин (0,013 мл, 0,070 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору N-(3,5-дифтор-4-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-ф]изохинолин-6-ил)фенил)азетидин-3-амин (22 мг, 0,050 ммоль) в NMP (0,4 мл) при температуре окружающей среды. Через 16 ч неочищенную реакционную смесь очищали непосредственно с помощью препаративной HPLC с обращенной фазой (колонка Waters XBridge C18, 19 мм в диаметре, 100 мм в длину, 5 мкм диоксид кремния), градиент элюирования от 40 до 70% MeCN в воде, содержащей 0,2% гидроксида аммония в качестве модификатора. Фракции с продуктом концентрировали до сухого состояния с получением N-(3,5-дифтор-4-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-ф]изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (9 мг, 36%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, CD_2Cl_2 , 27°C) 1,11 (3H, d), 1,69-1,78 (3H, m), 2,51-2,59 (2H, m), 2,81-2,94 (3H, m), 2,95-3,03 (1H, m), 3,16-3,30 (1H, m), 3,59-3,70 (3H, m), 3,94-4,05 (1H, m), 4,41 (1H, t), 4,45 (1H, d), 4,51 (1H, t), 5,27 (1H, s), 6,02 (2H, d), 6,83 (1H, d), 7,21 (1H, d), 8,03 (1H, s), 10,47 (1H, br. s);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 512$.

N-(3,5-Дифтор-4-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-ф]изохинолин-6-ил)фенил)азетидин-3-амин получали следующим образом.

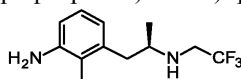
Получение 2,2,2-трифторэтилтрифторметансульфоната



Ангидрид трифторметансульфоновой кислоты (3,14 мл, 18,6 ммоль) добавляли по каплям с помощью шприца на протяжении 5 мин к перемешиваемому раствору 2,2,2-трифторэтан-1-ола (1,23 мл, 16,9 ммоль) и 2,6-диметилпиридина (2,36 мл, 20,3 ммоль) в DCM (50 мл) при -10°C. Через 2 ч реакционную смесь последовательно промывали водным раствором HCl (1н.; 2×30 мл) и насыщенным водным раствором NaHCO_3 (20 мл). Затем органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением 2,2,2-трифторэтилтрифторметансульфоната (0,92 г, 23%) в виде красного масла.

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3 , 27°C) 4,69 (2H, q).

Получение (R)-2-метил-3-(2-((2,2,2-трифторэтил)амино)пропил)анилина

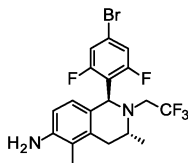


2,2,2-Трифторэтилтрифторметансульфонат (1,3 г, 2,8 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору (R)-3-(2-аминопропил)-2-метиланилина (0,460 г, 2,80 ммоль; полученному в соответствии с примером 3) и диизопропилэтиламина (0,636 мл, 3,64 ммоль) в 1,4-диоксане (10 мл). Реакционную смесь нагревали при 65°C в течение 15 ч и затем охлаждали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в EtOAc (50 мл) и промывали с помощью смеси насыщенного водного раствора NaHCO_3 и насыщенного водного раствора хлорида натрия. Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (20 мл), и объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в MeOH, адсорбировали на диатомовой земле при пониженном давлении и очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 1 до 6% MeOH в DCM. Фракции с продуктом концентрировали до сухого состояния с получением (R)-2-метил-3-(2-((2,2,2-трифторэтил)амино)пропил)анилина (0,30 г, 44%) в виде бледно-оранжевой смолы.

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,07 (3H, d), 2,09 (3H, s), 2,63 (1H, dd), 2,76 (1H, dd), 2,92-3,05 (1H, m), 3,15 (2H, q), 6,58 (2H, d), 6,85-7,00 (1H, m).

Сигналы для трех групп NH не наблюдали, масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 247$.

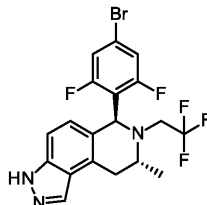
Получение (1S,3R)-1-(4-бром-2,6-дифторфенил)-3,5-диметил-2-(2,2,2-трифторэтил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин



(R)-2-Метил-3-(2-((2,2,2-трифторэтил)амино)пропил)анилин (303 мг, 1,23 ммоль) и 4-бром-2,6-дифторбензальдегид (544 мг, 2,46 ммоль) нагревали в смеси уксусной кислоты (5 мл) и воды (0,111 мл) при 90°C в течение 2 ч. Обеспечивали медленное охлаждение реакционной смеси до температуры окружающей среды и перемешивание в течение ночи. Затем реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток растворяли в EtOAc (30 мл) и промывали с помощью насыщенного водного раствора NaHCO₃ (2×20 мл). Объединенные водные слои экстрагировали с помощью EtOAc (2×20 мл) и объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия и концентрировали до минимального объема (~20 мл). Добавляли водный раствор HCl (1н.; 20 мл) и двухфазную смесь энергично перемешивали в течение 2 ч. Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (20 мл). Водный слой подщелачивали путем добавления твердого карбоната натрия (до pH ~8, измеренного с применением лакмусовой полоски для определения pH) и затем экстрагировали с помощью DCM (3×20 мл). Объединенные экстракты в DCM высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением 40 мг неочищенного продукта. В то же время объединенные экстракты в EtOAc промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия и концентрировали до сухого состояния. Полученный остаток растворяли в THF (10 мл) и перемешивали со связанным с полистиролом тозилгидразидом (1,03 г, 2,76 ммоль) в течение 14 ч. Смесь фильтровали и смолу последовательно промывали с помощью THF (10 мл) и MeOH (3×10 мл). Фильтрат объединяли с приблизительно 40 мг ранее полученного неочищенного продукта и концентрировали при пониженном давлении. Данный конечный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 30% EtOAc в гексанах. Фракции с продуктом концентрировали до сухого состояния с получением (1S,3R)-1-(4-бром-2,6-дифторфенил)-3,5-диметил-2-(2,2,2-трифторэтил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (230 мг, 41%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃, 27°C) 1,04 (3H, d), 2,42 (3H, s), 2,58 (1H, dd), 2,74-2,87 (1H, m), 3,02-3,28 (2H, m), 3,46-3,59 (1H, m), 5,27 (1H, s), 6,66 (1H, d), 7,02 (2H, d), 7,32 (1H, d), 9,95-10,73 (2H, br. s); масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 449.

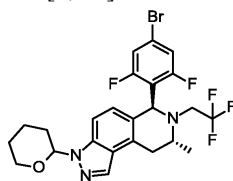
Получение (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пирозоло[4,3-f]изохинолина



Раствор нитрита натрия (35 мг, 0,51 ммоль) в воде (0,20 мл) добавляли по каплям на протяжении 1 мин к перемешиваемому раствору (1S,3R)-1-(4-бром-2,6-дифторфенил)-3,5-диметил-2-(2,2,2-трифторэтил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (230 мг, 0,51 ммоль) в пропионовой кислоте (2 мл) приблизительно при -20°C (баня со льдом-NaCl). Через 15 мин реакционную смесь разбавляли с помощью ледяного EtOAc (15 мл). Двухфазную смесь энергично перемешивали при таких условиях и нейтрализовали путем медленного добавления твердого Na₂CO₃ (до щелочной среды, измеренной с применением лакмусовой полоски для определения pH). Охлаждающую баню удаляли. Фазы разделяли и органический слой промывали с помощью насыщенного водного раствора NaHCO₃ (2×15 мл), насыщенного водного раствора хлорида натрия (15 мл), высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 5 до 35% EtOAc в гексанах. Фракции с продуктом концентрировали до сухого состояния с получением (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пирозоло[4,3-f]изохинолина (104 мг, 45%) в виде бледно-оранжевой пленки.

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃, 27°C) 1,15 (3H, d), 2,89-3,04 (2H, m), 3,20-3,36 (1H, m), 3,50 (1H, dd), 3,61-3,75 (1H, m), 5,41 (1H, s), 6,80 (1H, d), 7,01-7,11 (2H, m), 7,23 (1H, d), 8,10 (1H, s), 10,24 (1H, br. s); масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 460.

Получение (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пирозоло[4,3-f]изохинолина

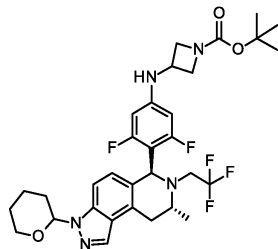


3,4-Дигидро-2H-пиран (0,103 мл, 1,13 ммоль) и моногидрат п-толуолсульфоновой кислоты (2 мг, 0,01 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-8-метил-7-

(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолина (104 мг, 0,23 ммоль) в DCM (1,5 мл). Реакционную смесь поддерживали в условиях нагревания с обратным холодильником в течение 1 ч. После охлаждения реакционную смесь разбавляли с помощью DCM, промывали с помощью насыщенного водного раствора NaHCO_3 , высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 30% EtOAc в гексанах. Фракции с продуктом концентрировали до сухого состояния с получением (6*S*,8*R*)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолина (117 мг, 95%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

Масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 544$.

Получение трет-бутил-3-((3,5-дифтор-4-((6*S*,8*R*)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)фенил)амино)азетидин-1-карбоксилата



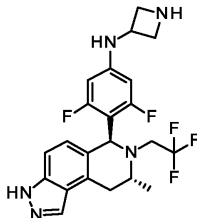
Во флакон загружали магнитный якорь, (6*S*,8*R*)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин (55 мг, 0,10 ммоль), трет-бутил-3-аминоазетидин-1-карбоксилат (26 мг, 0,15 ммоль), Pd_2dba_3 (9 мг, 0,01 ммоль), Xantphos (12 мг, 0,02 ммоль) и карбонат цезия (99 мг, 0,30 ммоль). Флакон герметизировали и откачивали воздух/заполняли азотом (3×) перед добавлением дегазированного 1,4-диоксана (1 мл) с помощью шприца. Смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 2 мин, затем помещали в нагревательный блок, предварительно нагретый до 90°C. Через 22 ч обеспечивали охлаждение смеси до комнатной температуры и затем разбавляли с помощью EtOAc. Смесь фильтровали через диатомовую землю и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 45% EtOAc в гексанах. Фракции с продуктом концентрировали до сухого состояния с получением трет-бутил-3-((3,5-дифтор-4-((6*S*,8*R*)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)фенил)амино)азетидин-1-карбоксилата (46 мг, 72%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,08 (3H, d), 1,42 (9H, s), 1,55-1,81 (4H, m), 1,97-2,23 (2H, m), 2,45-2,63 (1H, m), 2,80-3,02 (2H, m), 3,09-3,27 (1H, m), 3,34-3,47 (1H, m), 3,53-3,65 (1H, m), 3,66-3,75 (3H, m), 3,92-4,02 (1H, m), 4,19-4,32 (3H, m), 5,25 (1H, s), 5,58-5,67 (1H, m), 5,93 (2H, dd), 6,81 (1H, d), 7,22-7,27 (1H, m), 7,98 (1H, s).

Частичное перекрытие мультиплета при 7,22-7,27 ppm с хлороформом,

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 636$.

Получение N-(3,5-дифтор-4-((6*S*,8*R*)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)фенил)азетидин-3-амин

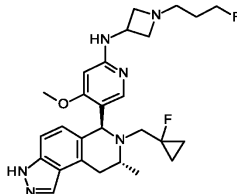


трет-Бутил-3-((3,5-дифтор-4-((6*S*,8*R*)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)фенил)амино)азетидин-1-карбоксилат (46 мг, 0,08 ммоль) растворяли в муравьиной кислоте (0,50 мл, 13 ммоль) и перемешиваемый раствор нагревали до 30°C. Через 27 ч реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в 5% IPA/DCM и нейтрализовали с помощью насыщенного водного раствора NaHCO_3 . Фазы разделяли и водный слой экстрагировали с помощью 5% IPA/DCM (2×4 мл). Объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного N-(3,5-дифтор-4-((6*S*,8*R*)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)фенил)азетидин-3-амин (38 мг, 111%), загрязненного незначительным количеством исходного материала, с которого частично снята защита, в виде бледно-желтой пленки.

Масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 452$.

Пример 9.

5-((6S,8R)-7-((1-Фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-4-метоксипиридин-2-амин



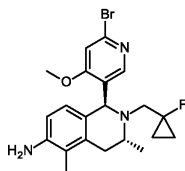
DMF (1 мл) и DIPEA (0,022 мл, 0,13 ммоль) последовательно добавляли в колбу, в которую был загружен N-(азетидин-3-ил)-5-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-4-метоксипиридин-2-амин (22 мг, 0,050 ммоль). Затем добавляли 1-фтор-3-йодпропан (9 мг, 0,05 ммоль) в DMF (0,1 мл). Через 2 ч реакцию смесь разбавляли насыщенным водным раствором хлорида натрия и смесь экстрагировали в EtOAc (3×). Объединенные органические слои промывали водой и высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученную неочищенную пленку очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 2 до 10% MeOH в DCM, с получением 5-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-4-метоксипиридин-2-амин (9,0 мг, 36%) в виде сухой пленки.

1H ЯМР (500 МГц, ХЛОРОФОРМ-d, 27°C) δ ppm 0,46-0,66 (2H, m), 0,85-1,05 (2H, m), 1,09 (3H, d), 1,64-1,78 (2H, m), 2,50-2,61 (3H, m), 2,83 (1H, dd), 2,87-2,96 (2H, m), 3,04-3,21 (2H, m), 3,56-3,69 (2H, m), 3,70-3,76 (1H, m), 3,85 (3H, s), 4,30-4,37 (1H, m), 4,45 (2H, dt), 4,93 (1H, br d), 5,32 (1H, s), 5,82 (1H, s), 6,76 (1H, d), 7,00 (1H, d), 7,32 (1H, s), 7,99 (1H, s), 11,00 (1H, br s);

масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 497$

N-(Азетидин-3-ил)-5-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-4-метоксипиридин-2-амин получали как описано ниже.

Получение (1S,3R)-1-(6-бром-4-метоксипиридин-3-ил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин



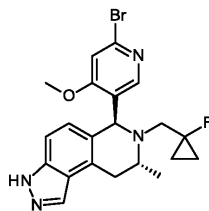
6-Бром-4-метоксиникотинальдегид (1,46 г, 6,77 ммоль) добавляли к раствору (R)-3-(2-(((1-фторциклопропил)метил)амино)пропил)-2-метиланилина (0,800 г, 3,39 ммоль) в AcOH (27 мл) и воде (0,305 г, 16,9 ммоль) и реакцию смесь нагревали при 85°C в течение 18 ч. После охлаждения реакцию смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток разбавляли этилацетатом и подщелачивали с помощью насыщенного водного раствора гидрокарбоната натрия. Органический слой объединяли с водным раствором HCl (1н.) и двухфазную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Органический слой промывали водным раствором HCl (1н.), затем объединенные водные слои экстрагировали с помощью этилацетата. Затем водный слой подщелачивали путем добавления твердого K_2CO_3 и экстрагировали с помощью этилацетата (2×). Объединенные экстракты в этилацетате из водного слоя, который подщелачивали, высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 10 до 100% этилацетата в гексанах, с получением (1S,3R)-1-(6-бром-4-метоксипиридин-3-ил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (0,450 г, 30,6%) в виде смолы.

1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆, 27°C) δ ppm 0,47-0,64 (2H, m), 0,87-0,98 (5H, m), 1,95 (3H, s), 2,42-2,48 (1H, m), 2,79 (1H, dd), 2,87-2,99 (1H, m), 3,41-3,50 (1H, m), 3,92-3,97 (3H, m), 4,66 (2H, s), 5,11 (1H, s), 6,30 (1H, d), 6,39 (1H, d), 7,26 (1H, s), 7,64 (1H, s).

Один водород перекрыт DMSO.

Масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 434$.

Получение (6S,8R)-6-(6-бром-4-метоксипиридин-3-ил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолина

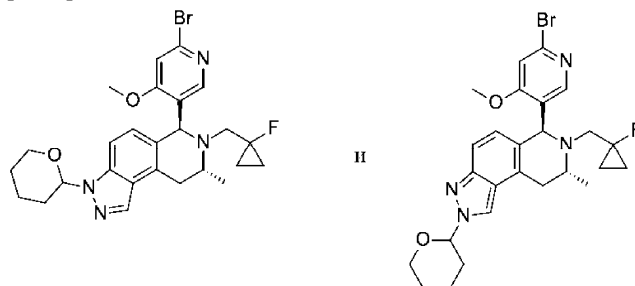


Раствор нитрита натрия (0,045 г, 0,65 ммоль) в воде (0,75 мл) добавляли по каплям к раствору (1S,3R)-1-(6-бром-4-метоксипиридин-3-ил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (0,270 г, 0,62 ммоль) в пропионовой кислоте (3,0 мл) при -15°C (баня с солью/льдом) и реакционную смесь перемешивали при таких условиях 1 ч. Добавляли ледяной EtOAc (10 мл) с последующим добавлением порциями насыщенного водного раствора NaHCO₃ (15 мл). Слои разделяли и органический слой промывали насыщенным водным раствором NaHCO₃ (2×). Объединенные водные слои (pH 8) экстрагировали с помощью EtOAc и затем все объединенные органические слои высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 20 до 60% этилацетата в гексанах, с получением (6S,8R)-6-(6-бром-4-метоксипиридин-3-ил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (0,11 г, 41%) в виде смолы.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 0,47-0,64 (2H, m), 0,87-0,97 (2H, m), 0,97-1,01 (3H, m), 2,51-2,63 (1H, m), 2,89 (1H, dd), 2,94-3,06 (1H, m), 3,23 (1H, br dd), 3,54-3,67 (1H, m), 3,97 (3H, s), 5,28 (1H, s), 6,68 (1H, d), 7,21 (1H, d), 7,30 (1H, s), 7,68 (1H, s), 8,06 (1H, s), 12,98 (1H, br s);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 445.

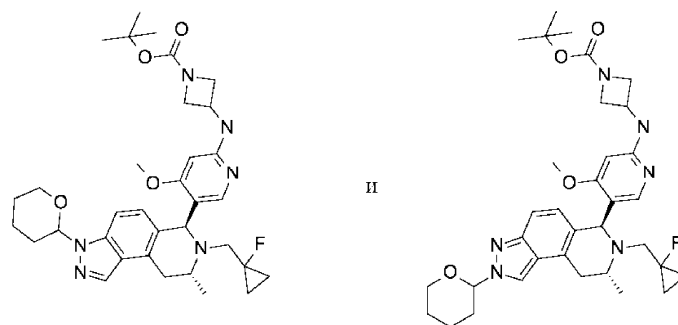
Получение (6S,8R)-6-(6-бром-4-метокси-3-пиридил)-7-[(1-фторциклопропил)метил]-8-метил-3-[(2R)-тетрагидропиран-2-ил]-8,9-дигидро-6H-пиразоло[4,3-f]изохинолина и (6S,8R)-6-(6-бром-4-метоксипиридин-3-ил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-2-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-2H-пиразоло[4,3-f]изохинолина



DCM (4 мл) добавляли в колбу, в которую были загружены (6S,8R)-6-(6-бром-4-метоксипиридин-3-ил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин (150 мг, 0,34 ммоль) и гидрат 4-метилбензолсульфоновой кислоты (71 мг, 0,37 ммоль). 3,4-Дигидро-2H-пиран (43 мг, 0,51 ммоль) добавляли к перемешиваемой реакционной смеси и реакционную смесь перемешивали при к. т. в течение ночи. Реакционную смесь промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия и органический слой высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенной коричневой смолы. Полученное очищали посредством флэш-хроматографии, градиент элюирования от 5 до 40% EtOAc в гексанах, с получением смеси (6S,8R)-6-(6-бром-4-метокси-3-пиридил)-7-[(1-фторциклопропил)метил]-8-метил-3-[(2R)-тетрагидропиран-2-ил]-8,9-дигидро-6H-пиразоло[4,3-f]изохинолина и (6S,8R)-6-(6-бром-4-метоксипиридин-3-ил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-2-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-2H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (151 мг, 85%) в виде смолы.

¹H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d, 27°C) 0,45-0,61 (2H, m), 0,96-1,06 (2H, m), 1,09 (3H, d), 1,46-1,91 (3H, m), 2,03-2,20 (2H, m), 2,47-2,63 (2H, m), 2,88 (1H, ddd), 3,14 (1H, dd), 3,20-3,31 (1H, m), 3,64-3,79 (2H, m), 3,96 (3H, d), 3,98-4,06 (1H, m), 5,40 (1H, d), 5,64-5,71 (1H, m), 6,78 (1H, d), 6,99 (1H, d), 7,25-7,33 (1H, m), 7,76 (1H, d), 8,02 (1H, d).

Получение трет-бутил-3-((5-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-4-метоксипиридин-2-ил)амино)азетидин-1-карбоксилата и трет-бутил-3-((5-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-2-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-2H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-4-метоксипиридин-2-иламино)азетидин-1-карбоксилата

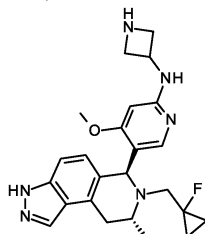


Диоксан (2,7 мл) добавляли в колбу, в которую была загружена смесь (6S,8R)-6-(6-бром-4-метоксипиридин-3-ил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолина и (6S,8R)-6-(6-бром-4-метоксипиридин-3-ил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-2-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-2Н-пиразоло[4,3-f]изохинолина (140 мг, 0,26 ммоль), карбонат цезия (172 мг, 0,53 ммоль) и трет-бутил-3-аминоазетидин-1-карбоксилат (68 мг, 0,40 ммоль) и из реакционной колбы откачивали воздух и заполняли ее азотом (3×). Добавляли прекатализатор 3-го поколения BrettPhos (24 мг, 0,030 ммоль) и из колбы снова откачивали воздух и заполняли ее азотом (3×). Реакционную смесь нагревали при 110°C в течение 4 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученную смолу очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 30 до 100% этилацетата в гексанах, с получением смеси трет-бутил-3-((5-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-4-метоксипиридин-2-ил)амино)азетидин-1-карбоксилата и трет-бутил-3-(5-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-2-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-2Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-4-метоксипиридин-2-иламино)азетидин-1-карбоксилата (53 мг, 32%) в виде сухой пленки.

¹H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d, 27°C) 0,50-0,68 (2H, m), 0,96-1,09 (2H, m), 1,12 (3H, d), 1,42-1,47 (9H, m), 1,60-1,88 (3H, m), 2,07-2,21 (2H, m), 2,50-2,67 (2H, m), 2,85 (1H, ddd), 3,10-3,23 (2H, m), 3,63-3,79 (4H, m), 3,87-3,91 (3H, m), 3,99-4,07 (1H, m), 4,24-4,33 (2H, m), 4,42-4,52 (1H, m), 5,36 (1H, d), 5,64-5,73 (1H, m), 5,83 (1H, d), 6,85 (1H, d), 7,26-7,32 (2H, m), 7,40 (1H, d), 8,00-8,03 (1H, m);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 621.

Получение N-(азетидин-3-ил)-5-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-4-метоксипиридин-2-амин

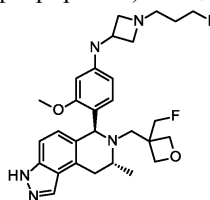


Метанол (0,5 мл) добавляли в колбу, в которую был загружен трет-бутил-3-((5-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-4-метоксипиридин-2-ил)амино)азетидин-1-карбоксилат (0,047 г, 0,080 ммоль). Добавляли HCl в диоксане (4 М; 0,5 мл, 2 ммоль) и перемешивание продолжали в течение 2 ч. Затем реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток очищали с применением картриджа SCX-2 с элюированием с помощью 3Н. аммиака в метаноле с получением неочищенного N-(азетидин-3-ил)-5-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-4-метоксипиридин-2-амин (25 мг, 76%) в виде смолы. Продукт применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 437.

Пример 10.

N-(4-((6S,8R)-7-((3-(Фторметил)оксетан-3-ил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин



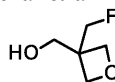
Добавляли 1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (47,3 мг, 0,36 ммоль) в 1,4-диоксане (1,4 мл) в герметично закрытый флакон для микроволновой обработки, содержащий (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-((3-(фторметил)оксетан-3-ил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин (100 мг, 0,18 ммоль), трет-бутоксид натрия (34,4 мг, 0,36 ммоль) и [(2-д и циклогексилфосфино-3,6-диметокси-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил)-2-(2'-амино-1,1'-бифенил)]-палладия(II) метансульфонат (BrettPhos Pd G3) (8,10 мг, 8,95 мкмоль). Флакон дегазировали путем барботирования азота в течение 10 мин., затем нагревали до 90°C в течение 1 ч. После охлаждения реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc и промывали водой. Водную фазу экстрагировали с помощью EtOAc, затем объединенные органические вещества выпаривали. Неочищенный остаток растворяли в DCM (2 мл) и добавляли TFA (1 мл). Смесь перемешивали в течение 1 ч, затем выпаривали. Остаток растворяли в DCM и промывали с помощью насыщенного водного раствора NaHCO₃. Водный слой экстрагировали с помощью DCM, затем объединенные органические вещества высушивали над Na₂SO₄ и выпаривали. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной HPLC (колонка Waters XBridge Prep C18 OBD, 5 мкм диоксид кремния, 19 мм в диаметре, 100 мм в длину) с применением смесей воды (содержащей 0,1% NH₃) и MeCN с уменьшающейся полярностью в качестве элюентов. Фракции, содержащие необходимое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением N-(4-((6S,8R)-7-((3-(фторметил)оксетан-3-ил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (59,0 мг, 63%) в виде бежевого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃, 27°C) 1,07 (3H, d), 1,68-1,87 (2H, m), 2,62 (2H, t), 2,75 (1H, d), 2,83 (1H, dd), 2,87-2,96 (3H, m), 3,10 (1H, dd), 3,27 (1H, dt), 3,74 (2H, q), 3,84 (3H, s), 4,04-4,14 (2H, m), 4,43 (4H, td), 4,53 (1H, t), 4,58 (1H, d), 4,78 (2H, td), 5,11 (1H, s), 5,90 (1H, dd), 6,12 (1H, d), 6,48 (1H, d), 6,80 (1H, d), 7,15 (1H, d), 8,05 (1H, d);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 526.

N-(4-((6S,8R)-7-((3-(Фторметил)оксетан-3-ил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин получали следующим образом.

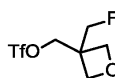
Получение (3-(фторметил)оксетан-3-ил)метанола



Фторид цезия (5,03 г, 33,14 ммоль) добавляли в колбу, содержащую (3-(бромметил)оксетан-3-ил)метанол (2,00 г, 11,05 ммоль) в этиленгликоле (6 мл) и реакционную смесь нагревали до 150°C в течение 2 ч. После охлаждения реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (30 мл) и воды (30 мл). Водный слой экстрагировали с помощью диэтилового эфира (3×30 мл) и этилацетата (3×30 мл). Объединенные органические вещества высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали, затем неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 100% EtOAc в гептане. Фракции, содержащие продукт, выпаривали до сухого состояния с получением (3-(фторметил)оксетан-3-ил)метанола (0,734 г, 55%) в виде бесцветной жидкости.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃, 27°C) 3,92 (2H, s), 4,52 (4H, t), 4,59-4,89 (2H, m).

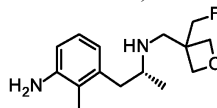
Получение (3-(фторметил)оксетан-3-ил)метилтрифторметансульфоната



К раствору (3-(фторметил)оксетан-3-ил)метанола (1,00 г, 8,32 ммоль) в DCM (30,7 мл) добавляли ангидрид трифторметансульфоновой кислоты (1,47 мл, 8,74 ммоль) с последующим добавлением 2,6-диметилпиридина (1,12 мл, 9,57 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Реакционную смесь промывали водой и 1н. раствором лимонной кислоты, затем высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и выпаривали с получением (3-(фторметил)оксетан-3-ил)метилтрифторметансульфоната (1,98 г, 94%) в виде красного масла, которое применяли непосредственно без дополнительной очистки.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃, 27°C) 4,40-4,75 (8H, m).

Получение (R)-3-(2-((3-(фторметил)оксетан-3-ил)метил)амино)пропил)-2-метиланилина



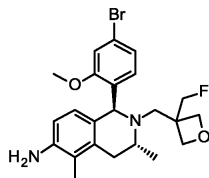
(3-(Фторметил)оксетан-3-ил)метилтрифторметансульфонат (1,92 г, 7,61 ммоль) добавляли к раствору (R)-3-(2-аминопропил)-2-метиланилина (1,00 г, 6,09 ммоль) и DIPEA (1,58 мл, 9,13 ммоль) в 1,4-диоксане (18,7 мл) и реакционную смесь нагревали до 70°C в течение 5 ч. После охлаждения реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc и промывали водой. Водную фазу экстрагировали с помощью EtOAc, затем объединенные органические вещества высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и выпаривали. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 10% MeOH в EtOAc. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с полу-

чением (R)-3-(2-(((3-(фторметил)оксетан-3-ил)метил)амино)пропил)-2-метиланилина (0,673 г, 42%) в виде бледно-желтой смолы.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,11 (3H, d), 2,04 (3H, s), 2,59-2,71 (1H, m), 2,76-3,10 (4H, m), 4,34-4,52 (4H, m), 4,53-4,68 (2H, m), 6,58 (1H, d), 6,60 (1H, d), 6,95 (1H, t);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 267$.

Получение (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-2-((3-(фторметил)оксетан-3-ил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина

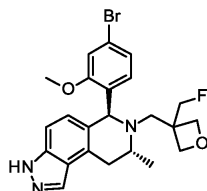


4-Бром-2-метоксибензальдегид (645 мг, 3,00 ммоль) добавляли к раствору (R)-3-(2-(((3-(фторметил)оксетан-3-ил)метил)амино)пропил)-2-метиланилина (400 мг, 1,5 ммоль) в уксусной кислоте (7,4 мл) и воде (135 мкл, 7,50 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 80°C в течение 4 ч. После охлаждения уксусную кислоту выпаривали, затем остаток растворяли в DCM и промывали с помощью насыщенного водного раствора NaHCO_3 . Органический слой высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и выпаривали. Остаток растворяли в метаноле (5 мл), затем добавляли гидрохлорид гидроксиламина (313 мг, 4,50 ммоль) и ацетат калия (588 мг, 6,00 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Летучие вещества выпаривали, затем остаток растворяли в DCM и воде. Слои разделяли, затем водный слой экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические вещества высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и выпаривали, затем неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 50% EtOAc в гептане. Фракции, содержащие продукт, выпаривали до сухого состояния с получением (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-2-((3-(фторметил)оксетан-3-ил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина (302 мг, 43%) в виде бежевого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,01 (3H, d), 2,07 (3H, s), 2,45 (1H, dd), 2,61-2,73 (1H, m), 2,86 (1H, d), 3,01-3,14 (1H, m), 3,54 (2H, s), 3,87 (3H, s), 4,41-4,48 (2H, m), 4,51 (1H, d), 4,53-4,60 (2H, m), 4,67 (1H, d), 4,73-4,81 (1H, m), 5,00 (1H, s), 6,47 (1H, s), 6,47 (1H, s), 6,61 (1H, d), 6,88 (1H, dd), 7,01 (1H, d);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 463$.

Получение (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-((3-(фторметил)оксетан-3-ил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина

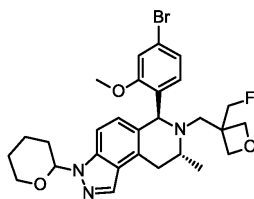


Добавляли нитрит натрия (39,1 мг, 0,57 ммоль) в воде (0,5 мл) к охлажденному раствору (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-2-((3-(фторметил)оксетан-3-ил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина (250 мг, 0,54 ммоль) в пропионовой кислоте (2,2 мл) при -15°C (баня с сухим льдом/ацетоном). После перемешивания в течение 30 мин добавляли ледяной толуол (15 мл) и реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 15 мин. и затем нагревали до комнатной температуры в течение 1 ч. Добавляли воду (15 мл) и слои разделяли. Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (2x15 мл), затем объединенные органические вещества промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и выпаривали. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 50% EtOAc в гептане. Фракции, содержащие продукт, выпаривали до сухого состояния с получением (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-((3-(фторметил)оксетан-3-ил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (188 мг, 74%) в виде бежевого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,07 (3H, d), 2,70 (1H, d), 2,87 (1H, dd), 2,97 (1H, d), 3,11-3,18 (1H, m), 3,18-3,27 (1H, m), 3,90 (3H, s), 4,42-4,52 (3H, m), 4,59 (1H, d), 4,63-4,87 (2H, m), 5,19 (1H, s), 6,63 (1H, d), 6,76 (1H, d), 6,88 (1H, dd), 7,05 (1H, d), 7,19 (1H, d), 8,09 (1H, d);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 474$.

Получение (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-((3-(фторметил)оксетан-3-ил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина

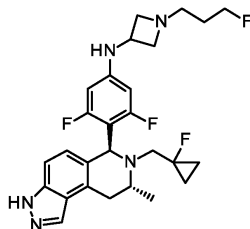


3,4-Дигидро-2Н-пиран (67,3 мкл, 0,74 ммоль) добавляли к раствору (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-((3-(фторметил)оксетан-3-ил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолина (175 мг, 0,37 ммоль) и гидрата 4-метилбензолсульфоновой кислоты (14,0 мг, 0,07 ммоль) в DCM (3,6 мл) и реакционную смесь перемешивали при 40°C в течение 2 ч. После охлаждения реакционную смесь разбавляли с помощью DCM и промывали с помощью насыщенного водного раствора NaHCO_3 , высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и выпаривали. Остаток пропускали через пробку из диоксида кремния с элюированием с помощью смеси EtOAc /гептан (1:1). Фильтрат выпаривали с получением (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-((3-(фторметил)оксетан-3-ил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолина (196 мг, 95%) в виде бежевого твердого вещества, которое применяли непосредственно на следующей стадии.

Масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 558$.

Пример 11.

N-(3,5-Дифтор-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин



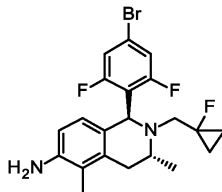
4н. HCl в диоксане (0,25 мл, 0,99 ммоль) добавляли к раствору N-(3,5-дифтор-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (58 мг, 0,10 ммоль) в метаноле (0,30 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Летучие вещества выпаривали и остаток суспендировали в насыщенном водном растворе NaHCO_3 (30 мл) и экстрагировали с помощью DCM ($\times 2$). Органическую фазу высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали. Неочищенный остаток очищали посредством хроматографии на диоксиде кремния и элюировали с применением градиента от 0 до 10% 1 М NH_3/MeOH в DCM. Фракции, содержащие продукт, выпаривали до сухого состояния с получением N-(3,5-дифтор-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (45,4 мг, 91%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 0,47 (2H, dtd), 0,95 (2H, dt), 1,08 (3H, d), 1,68-1,85 (2H, m), 2,59 (2H, s), 2,69 (1H, dd), 2,91 (3H, dq), 3,14 (1H, dd), 3,43 (1H, dd), 3,69 (2H, q), 3,81 (1H, dd), 4,01 (1H, q), 4,28 (1H, d), 4,43 (1H, t), 4,53 (1H, t), 5,19 (1H, s), 5,96 (2H, d), 6,82 (1H, d), 7,15 (1H, d), 8,06 (1H, d), 10,36 (1H, s);

масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 502$.

N-(3,5-Дифтор-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин получали следующим образом.

Получение (1S,3R)-1-(4-бром-2,6-дифторфенил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин



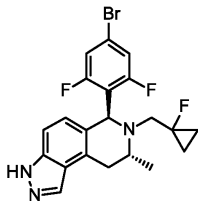
(R)-3-(2-(((1-Фторциклопропил)метил)амино)пропил)-2-метиланилин (0,35 г, 1,48 ммоль) и 4-бром-2,6-дифторбензальдегид (0,33 г, 1,48 ммоль) в смеси H_2O (0,13 мл, 7,40 ммоль) и уксусной кислоты (5,79 мл) нагревали при 80°C в течение 7 ч. Растворитель выпаривали и остаток обрабатывали с помощью HCl (1н., 10 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. К реакционной смеси добавляли твердый Na_2CO_3 до значения pH реакционной смеси, составляющего >8 . Смесь разбавляли с помощью H_2O (40 мл) и экстрагировали два раза с помощью EtOAc (2×50 мл). Органическую фазу вы-

сушили над MgSO_4 , фильтровали, концентрировали и очищали посредством хроматографии на диоксиде кремния (от 10 до 70% EtOAc в гептанах) с получением (1S,3R)-1-(4-бром-2,6-дифторфенил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-иметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (0,285 г, 44%) в виде бледно-желтой смолы.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 0,44 (2H, dq), 0,91-0,95 (1H, m), 0,95-0,99 (1H, m), 1,02 (3H, d), 2,06 (3H, s), 2,50-2,65 (2H, m), 3,00-3,15 (2H, m), 3,50 (2H, s), 3,69 (1H, d), 5,17 (1H, s), 6,42 (2H, s), 6,97 (1H, d), 6,99 (1H, d);

масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 439$.

Получение (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолина

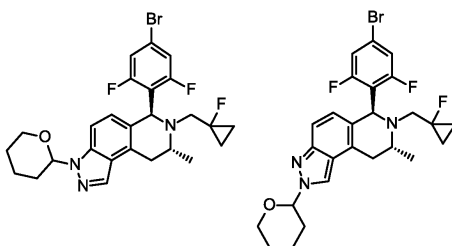


(1S,3R)-1-(4-Бром-2,6-дифторфенил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (0,280 г, 0,64 ммоль) в пропионовой кислоте (2,66 мл) охлаждали до -17°C (баня с сухим льдом/ацетоном). Добавляли по каплям нитрит натрия (0,044 г, 0,64 ммоль) в воде (0,53 мл) и реакционную смесь перемешивали при -17°C в течение 30 мин. Реакционную смесь разбавляли ледяным толуолом (15 мл) и перемешивали при 4°C в течение 15 мин. Затем смесь перемешивали и нагревали до комнатной температуры в течение 45 мин. Реакционную смесь промывали водой (2×15 мл), объединенные водные фазы промывали с помощью EtOAc (2×10 мл), объединенные органические вещества промывали с помощью насыщенного водного раствора хлорида натрия (1×20 мл), высушивали (MgSO_4), фильтровали и фильтрат выпаривали до оранжево-коричневого масла. Неочищенный материал очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования 0-40% EtOAc в гептане, с получением (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолина (0,216 г, 75%) в виде грязно-белого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 0,46 (2H, dddd), 0,91-1,04 (2H, m), 1,07 (3H, d), 2,66 (1H, dd), 2,95 (1H, dd), 3,15 (1H, dd), 3,46 (1H, dd), 3,83 (1H, dd), 5,32 (1H, s), 6,76 (1H, d), 7,00 (2H, d), 7,18 (1H, d), 8,09 (1H, d), 10,52 (1H, s);

масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 450$.

Получение (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолина и (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-2-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолина

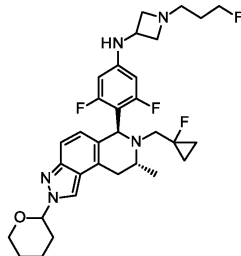


Во флакон для микроволновой обработки загружали (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин (216 мг, 0,48 ммоль), гидрат 4-метилбензолсульфоновой кислоты (9,1 мг, 0,05 ммоль), 3,4-дигидро-2Н-пиран (0,07 мл, 0,72 ммоль) и DCM (2 мл). Смесь нагревали в микроволновой печи при 80°C в течение 20 мин. Добавляли дополнительное количество (0,035 мл, 0,36 ммоль) 3,4-дигидро-2Н-пирана и реакционную смесь нагревали до 85°C в течение дополнительных 15 мин. Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM и промывали с помощью насыщенного водного раствора NaHCO_3 , затем органический слой высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 50% EtOAc в гептане. Фракции, содержащие продукт, выпаривали до сухого состояния с получением двух региоизомерных ТНР-защищенных продуктов, представляющих собой (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин и (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-2-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин (237 мг, 92%), в виде бледно-желтой смолы (данные приведены для основного изомера).

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 0,35-0,55 (2H, m), 0,96 (2H, ddd), 1,05 (3H, dd), 1,58-1,84 (3H, m), 1,97-2,32 (3H, m), 2,64 (1H, dd), 2,77 (1H, dd), 3,14 (1H, ddd), 3,29-3,54 (1H, m), 3,62-3,91 (2H, m), 3,96-4,25 (1H, m), 5,26 (1H, d), 5,65 (1H, ddd), 6,64 (1H, d), 7,00 (2H, d), 7,26-7,45 (1H, m), 8,13 (1H, dd);

масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 534$.

Получение N-(3,5-дифтор-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-2-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин



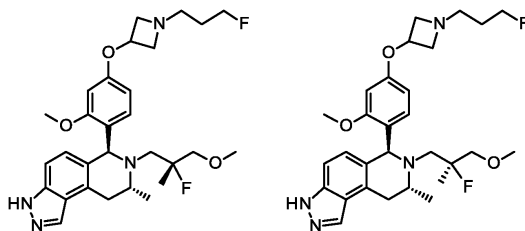
[(2-Дициклогексилфосфино-3,6-диметокси-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил)-2-(2'-амино-1,1'-бифенил)]палладия(II) метансульфонат (BrettPhos Pd G3) (5,0 мг, 5,54 мкмоль) добавляли к суспензии (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолина и (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-2-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолина (37 мг, 0,07 ммоль), 1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (22,9 мг, 0,17 ммоль) и трет-бутоксид натрия (13,3 мг, 0,14 ммоль) в дегазированном 1,4-диоксане (0,58 мл) и реакционную смесь нагревали до 95°C в течение 1,5 ч в микроволновой печи. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc, фильтровали через целит и выпаривали до сухого состояния. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 10% 1 М NH_3/MeOH в DCM. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением N-(3,5-дифтор-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-2-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (18,0 мг, 44%) в виде бесцветной сухой пленки.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 0,38-0,54 (2H, m), 0,94 (2H, ddd), 1,06 (3H, dd), 1,67-1,82 (4H, m), 2,04-2,25 (4H, m), 2,59 (2H, t), 2,63-2,77 (2H, m), 2,89 (2H, dd), 3,14 (1H, s), 3,29-3,37 (1H, m), 3,70 (2H, q), 3,75-3,81 (2H, m), 4,00 (1H, q), 4,12-4,17 (1H, m), 4,22 (1H, d), 4,43 (1H, t), 4,52 (1H, t), 5,10 (1H, s), 5,55-5,74 (1H, m), 5,96 (2H, d), 6,71 (1H, d), 7,28-7,44 (1H, m), 8,10 (1H, dd);

масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 586$.

Примеры 12 и 13.

Получение отдельных диастереоизомеров (6S,8R)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-6-(4-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-илокси)-2-метоксифенил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолина



В колбу, в которую был загружен (6S,8R)-6-(4-(азетидин-3-илокси)-2-метоксифенил)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин (32 мг, 0,07 ммоль), добавляли DMF (0,66 мл) с последующим добавлением DIPEA (23,9 мкл, 0,14 ммоль). В перемешиваемую реакционную смесь вводили по каплям 1-фтор-3-йодпропан (13,5 мг, 0,07 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь выпаривали до сухого состояния и остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 10% 1 М NH_3/MeOH в DCM. Фракции, содержащие продукт, выпаривали до сухого состояния с получением продукта в виде диастереоизомерной смеси. Диастереоизомеры разделяли посредством хиральной препаративной SFC (колонка Phenomenex Lux C4, 5 мкм диоксид кремния, 30 мм в диаметре, 250 мм в длину) с применением изократической смеси 40% MeOH + 0,1% NH_3 в CO_2 с уменьшающейся концентрацией в качестве элюента с получением первого элюируемого изомера (8,0 мг, 22%) и второго элюируемого изомера (8,0 мг, 22%) в виде бледно-желтых сухих пленок.

Изомер 1: ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,06 (3H, d), 1,28 (3H, d), 1,72-1,83 (2H, m), 2,47 (1H, dd), 2,63 (2H, t), 2,8-2,95 (2H, m), 3,03-3,11 (2H, m), 3,19 (2H, s), 3,33 (3H, s), 3,56 (1H, dd), 3,67 (1H, d), 3,79 (2H, q), 3,86 (3H, s), 4,44 (1H, t), 4,53 (1H, t), 4,74 (1H, t), 5,32 (1H, s), 6,10 (1H, dd), 6,41 (1H, d), 6,69 (1H,

d), 6,76 (1H, d), 7,13 (1H, d), 8,05 (1H, d), 10,20 (1H, s);

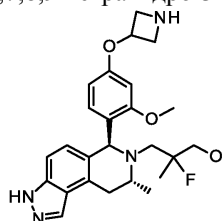
масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 529$;

Измер 2: 1H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$, 27°C) 1,06 (3H, d), 1,25 (3H, d), 1,70-1,82 (2H, m), 2,45-2,56 (1H, m), 2,63 (2H, t), 2,78-2,91 (2H, m), 3,02-3,11 (2H, m), 3,18 (1H, d), 3,36 (3H, s), 3,42 (1H, dd), 3,47-3,55 (1H, m), 3,62 (1H, d), 3,74-3,82 (2H, m), 3,86 (3H, s), 4,43 (1H, t), 4,53 (1H, t), 4,73 (1H, t), 5,36 (1H, s), 6,08 (1H, dd), 6,41 (1H, d), 6,67 (1H, d), 6,79 (1H, d), 7,15 (1H, d), 8,06 (1H, d), 10,20 (1H, s);

масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 529$.

(6S,8R)-6-(4-(Азетидин-3-илокси)-2-метоксифенил)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин получали следующим образом.

Получение диастереоизомерной смеси (6S,8R)-6-(4-(азетидин-3-илокси)-2-метоксифенил)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина



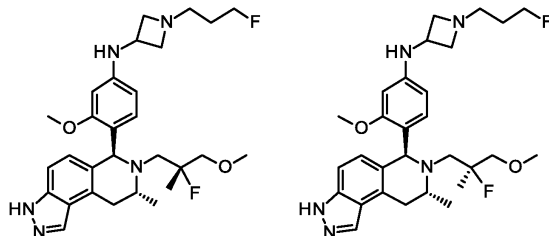
трет-Бутил-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилат (102 мг, 0,59 ммоль), (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин (110 мг, 0,20 ммоль), трет-бутил-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилат (102 мг, 0,59 ммоль), Pd RockPhos 3-го поколения (16,6 мг, 0,02 ммоль) и карбонат цезия (128 мг, 0,39 ммоль) суспендировали в толуоле (1,26 мл) и герметизировали в пробирке для микроволновой обработки. Реакционную смесь нагревали до 95°C в течение 20 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (25 мл) и фильтровали через целит. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния с градиентом элюирования 0-100% EtOAc в гептане. Фракции, содержащие продукт с примесями, выпаривали до сухого состояния и растворяли в DCM (1,3 мл), к которому добавляли по каплям TFA (378 мкл, 4,91 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, затем летучие вещества удаляли in vacuo. Остаток промывали насыщенным водным раствором $NaHCO_3$ (30 мл) и экстрагировали с помощью DCM (2×30 мл). Объединенную органическую фазу высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и выпаривали. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 40% 1 М $NH_3/MeOH$ в DCM. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением (6S,8R)-6-(4-(азетидин-3-илокси)-2-метоксифенил)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (35,0 мг, 38%) в виде белого твердого вещества.

1H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$, 27°C) 1,06 (3H, dd), 1,24-1,35 (3H, m), 2,49 (1H, dt), 2,76-2,96 (2H, m), 3,08-3,27 (2H, m), 3,34 (3H, d), 3,41 (1H, s), 3,53-3,69 (2H, m), 3,69-3,93 (7H, m), 4,81-5,08 (1H, m), 5,34 (1H, d), 6,02-6,12 (1H, m), 6,40 (1H, t), 6,68 (1H, s), 6,77 (1H, dd), 7,13 (1H, d), 8,05 (1H, t);

масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+ = 469$.

Примеры 14 и 15.

Получение отдельных диастереоизомеров N-(4-((6S,8R)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)-азетидин-3-амин



1-(3-Фторпропил)азетидин-3-амин (175 мг, 1,32 ммоль), (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин (370 мг, 0,66 ммоль) и трет-бутоксид натрия (127 мг, 1,32 ммоль) суспендировали в 1,4-диоксане (8 мл). Смесь дегазировали и добавляли [(2-дициклогексилфосфино-3,6-диметокси-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил)-2-(2'-амино-1,1'-бифенил)]палладия(II) метансульфонат (Brett Phos G3) (60 мг, 0,07 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 100°C в течение 3 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM (100 мл) и промывали водой (100 мл). Органический слой выпаривали. Данный способ повторяли с применением 114 мг (0,3 ммоль) арилбромид. Объединенные неочищенные продукты, полученные в результате данных реакций, суспендировали в хлористоводородной кислоте (2 М, 5 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь раз-

бавляли водой (10 мл) и промывали с помощью EtOAc (10 мл). Водную фазу подщелачивали с помощью 2 М водного раствора гидроксида натрия и экстрагировали с помощью DCM (2×15 мл). Объединенные органические вещества выпаривали и неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 20% MeOH в DCM. Фракции выпаривали до сухого состояния с получением неочищенного продукта в виде смеси диастереоизомеров, которые разделяли посредством хиральной препаративной SFC (колонка Phenomenex Lux C4, 5 мкм диоксид кремния, 30 мм в диаметре, 250 мм в длину) с применением изократической смеси 40% MeOH + 0,1% NH₃ в CO₂ с уменьшающейся концентрацией в качестве элюента с получением первого элюируемого изомера (42 мг, 19%) и второго элюируемого изомера (29 мг, 13%).

Изомер 1: ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO, 27°C) 0,96 (3H, d), 1,20 (3H, d), 2,36-2,44 (1H, m), 2,65-2,85 (3H, m), 2,92 (4H, q), 3,05-3,22 (3H, m), 3,23 (3H, s), 3,24-3,27 (2H, m), 3,46-3,59 (2H, m), 3,78 (3H, s), 4,49 (2H, dd), 5,16 (1H, s), 5,35 (1H, t), 5,95 (1H, dd), 6,23 (1H, d), 6,36 (1H, d), 6,63 (1H, d), 7,16 (1H, d), 8,02 (1H, s), 12,90 (1H, s);

¹⁹F ЯМР (471 МГц, DMSO, 27°C) -219,77, -149,11

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 528.

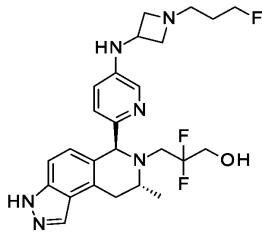
Изомер 2: ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO, 27°C) 0,97 (3H, d), 1,19 (3H, d), 2,68-2,81 (3H, m), 2,88-2,95 (3H, m), 3,05-3,11 (1H, m), 3,21-3,28 (5H, m), 3,32-3,39 (1H, m), 3,43-3,56 (2H, m), 3,79 (3H, s), 4,49 (2H, dd), 5,17 (1H, s), 5,34 (1H, t), 5,93 (1H, dd), 6,23 (1H, d), 6,35 (1H, d), 6,64 (1H, d), 7,16 (1H, d), 8,02 (1H, s), 12,90 (1H, s);

¹⁹F ЯМР (471 МГц, DMSO, 27°C) -219,76, -148,20;

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 528.

Пример 16.

Получение 2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)пиридин-2-ил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7Н-пирозоло[4,3-*f*]изохинолин-7-ил)пропан-1-ола



Хлористоводородную кислоту (2,0 М, 0,5 мл) добавляли к 2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)пиридин-2-ил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-3,6,8,9-тетрагидро-7Н-пирозоло[4,3-*f*]изохинолин-7-ил)пропан-1-олу (0,132 г, 0,23 ммоль) и раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь очищали посредством ионообменной хроматографии с применением колонки SCX. Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 1 М NH₃/MeOH с получением 2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)пиридин-2-ил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7Н-пирозоло[4,3-*f*]изохинолин-7-ил)пропан-1-ола (0,084 г, 75%) в виде белого твердого вещества.

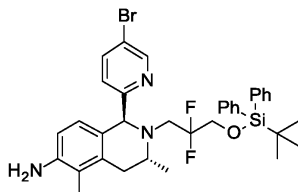
¹H ЯМР (500 МГц, DMSO, 27°C) 1,04 (3H, d), 1,20-1,28 (2H, m), 1,59-1,71 (2H, m), 2,60-2,70 (1H, m), 2,73-2,84 (3H, m), 2,99 (1H, dd), 3,08-3,18 (1H, m), 3,41 (1H, d), 3,61-3,72 (4H, m), 3,93 (1H, d), 4,44 (2H, dt), 4,94 (1H, s), 5,42 (1H, t), 6,21 (1H, d), 6,78-6,82 (2H, m), 6,90 (1H, d), 7,21 (1H, d), 7,74 (1H, d), 8,03 (1H, s), 12,94 (1H, s);

¹⁹F ЯМР (471 МГц, DMSO, 27°C) -218,24, -108,31;

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 489.

2,2-Дифтор-3-((6S,8R)-6-(5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)пиридин-2-ил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-3,6,8,9-тетрагидро-7Н-пирозоло[4,3-*f*]изохинолин-7-ил)пропан-1-ол получали следующим образом.

Получение (1S,3R)-1-(5-бромпиридин-2-ил)-2-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина



(R)-3-(2-((3-((трет-Бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)амино)пропил)-2-метиланилин (1,20 г, 2,42 ммоль) и 5-бромпиридинальдегид (0,944 г, 5,07 ммоль) нагревали в уксусной кислоте (12 мл) и воде (0,22 мл, 12,08 ммоль) до 70°C в течение 30 мин. Реакционную смесь выпаривали и остаток повторно растворяли в этаноле (10 мл). Добавляли ацетат калия (0,594 г, 6,05 ммоль) и гидрохлорид гидро-

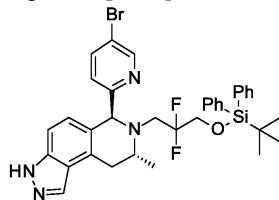
ксиламина (0,252 г, 3,63 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин, затем выпаривали и остаток разделяли между DCM (30 мл) и насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (30 мл). Органическую фазу выпаривали и неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 50% EtOAc в гептане, с получением (1S,3R)-1-(5-бромпиридин-2-ил)-2-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (1,090 г, 68%) в виде бесцветной смолы.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO, 27°C) 0,96 (9H, s), 0,98 (3H, d), 1,94 (3H, s), 2,40 (1H, dd), 2,57 (1H, dd), 2,66-2,78 (1H, m), 3,11-3,22 (2H, m), 3,84-3,93 (1H, m), 3,95-4,05 (1H, m), 4,69 (2H, s), 4,91 (1H, s), 6,39 (1H, d), 6,42 (1H, d), 6,99 (1H, d), 7,39-7,48 (6H, m), 7,59 (4H, ddd), 7,80 (1H, dd), 8,51 (1H, dd);

^{19}F ЯМР (471 МГц, DMSO, 27°C) -109,84 (d), -108,39 (d);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 664/666$.

Получение (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина



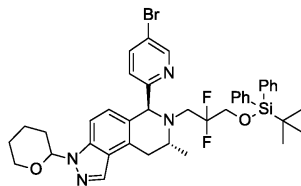
Нитрит натрия (119 мг, 1,72 ммоль) в воде (1,0 мл) добавляли к охлажденному льдом раствору (1S,3R)-1-(5-бромпиридин-2-ил)-2-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (1,09 г, 1,64 ммоль) и гидрата пара-толуолсульфоновой кислоты (0,94 г, 4,92 ммоль) в ацетонитриле (6 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин и затем нагревали до комнатной температуры в течение 45 мин. После охлаждения снова до 4°C добавляли ацетат тетрабутиламония (2,54 г, 8,20 ммоль) в ледяном MeCN (40 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин перед нагреванием до комнатной температуры в течение дополнительных 30 мин, добавляли EtOAc (120 мл) с последующим добавлением 2 M NaOH (100 мл). Органическую фазу промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, высушивали (Na_2SO_4) и выпаривали. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 50% EtOAc в гептане с получением (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (0,330 г, 30%) в виде светло-коричневой пены.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO, 27°C) 0,97 (9H, s), 1,06 (3H, d), 2,75-2,91 (2H, m), 2,99-3,06 (1H, m), 3,34-3,41 (2H, m), 3,88-4,01 (2H, m), 5,12 (1H, s), 6,83 (1H, d), 7,12 (1H, d), 7,26 (1H, d), 7,39-7,45 (4H, m), 7,46-7,50 (2H, m), 7,56-7,62 (4H, m), 7,85 (1H, dd), 8,07-8,09 (1H, m), 8,54 (1H, dd), 13,02 (1H, s);

^{19}F ЯМР (471 МГц, DMSO, 27°C) -110,01 (d), -108,72 (d);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 675/677$.

Получение диастереоизомерной смеси (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина

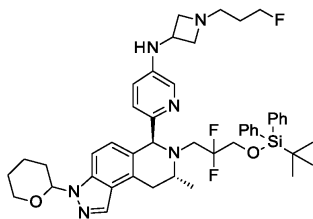


К раствору (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (0,330 г, 0,49 ммоль) и 3,4-дигидро-2H-пирана (0,13 мл, 1,47 ммоль) в DCM (5 мл) добавляли гидрат пара-толуолсульфоновой кислоты (93 мг, 0,49 ммоль) и реакционную смесь нагревали при 40°C в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM (20 мл) и промывали с помощью насыщенного водного раствора бикарбоната натрия (20 мл). Органическую фазу выпаривали до темно-коричневого масла и неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 50% EtOAc в гептане, с получением (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-3-((S)-тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (0,330 г, 89%) в виде смолы.

^{19}F ЯМР (471 МГц, DMSO, 27°C) -110,03 (d), -108,83 (d), -108,79 (d);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 759/761$.

Получение диастереоизомерной смеси 6-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин

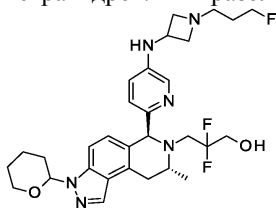


1-(3-Фторпропил)азетидин-3-амин (0,115 г, 0,87 ммоль), (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин (0,330 г, 0,43 ммоль), дициклогексил(2',4',6'-триизопропил-3,6-диметокси[1,1'-бифенил]-2-ил)фосфан (0,023 г, 0,04 ммоль) и трет-бутоксид натрия (0,125 г, 1,30 ммоль) суспендировали в 1,4-диоксане (4 мл). Смесь дегазировали и добавляли [(2-дициклогексилфосфино-3,6-диметокси-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил)-2-(2'-амино-1,1'-бифенил)]палладия(II) метансульфонат (BrettPhos G3) (0,039 г, 0,04 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 100°C в течение 3 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM (50 мл) и промывали водой (50 мл). Органический слой выпаривали и неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 20% MeOH в DCM, с получением 6-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин (0,264 г, 75%) в виде желтой смолы в виде смеси диастереоизомеров.

^{19}F ЯМР (471 МГц, DMSO, 27°C) -218,19, -110,13, -109,44, -108,6 -107,8;

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ 811$.

Получение диастереоизомерной смеси 2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)пиридин-2-ил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-7-ил)пропан-1-ола



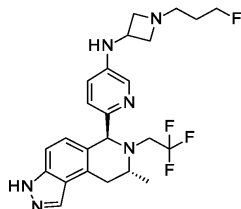
Фторид тетрабутиламмония (1,0 М в THF, 0,5 мл, 0,50 ммоль) добавляли к раствору 6-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин (0,264 г, 0,33 ммоль) в THF (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч, реакционную смесь выпаривали и остаток разделяли между DCM (20 мл) и водой (20 мл). Органическую фазу выпаривали и неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 20% MeOH в DCM, с получением 2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)пиридин-2-ил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-3,6,8,9-тетрагидро-7Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-7-ил)пропан-1-ола (0,132 г, 71%) в виде бесцветной сухой пленки в виде смеси диастереоизомеров.

^{19}F ЯМР (471 МГц, DMSO, 27°C) -218,19, -108,42, -108,39;

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 573$.

Пример 17.

Получение N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин



1-(3-Фторпропил)азетидин-3-амин (50 мг, 0,38 ммоль), (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин (0,100 г, 0,20 ммоль), карбонат цезия (128 мг, 0,39 ммоль) и [(2-дициклогексилфосфино-3,6-диметокси-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил)-2-(2'-амино-1,1'-бифенил)]палладия(II) метансульфонат (Brett Phos G3) (23 мг, 0,02 ммоль) суспендировали в 1,4-диоксане (2 мл) и герметизировали в пробирке для микроволновой обработки. Реакционную смесь нагревали до 100°C в течение 4 ч под воздействием микроволнового излучения. Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM (20 мл) и промывали водой (20 мл). Органический слой выпаривали и неочищенный продукт растворяли в DCM (3 мл) и TFA (0,3 мл). Реак-

ционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, затем реакционную смесь разделяли между DCM (20 мл) и 2 М NaOH (20 мл). Органическую фазу выпаривали и неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 20% MeOH в DCM. Фракции, содержащие продукт, выпаривали до сухого состояния с получением N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин (9,0 мг, 10%) в виде бесцветной сухой пленки.

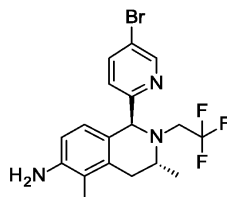
^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,14 (3H, d), 1,70-1,82 (2H, m), 2,62 (2H, t), 2,85 (1H, dd), 2,93-3,06 (3H, m), 3,20-3,31 (2H, m), 3,59 (1H, td), 3,73 (2H, dt), 4,10 (2H, dd), 4,48 (2H, dt), 5,03 (1H, s), 6,80 (1H, dd), 6,89 (1H, d), 7,15 (1H, d), 7,21 (1H, d), 7,84 (1H, dd), 8,01 (1H, d);

^{19}F ЯМР (471 МГц, DMSO, 27°C) -224,69, -75,55;

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 477$.

(6S,8R)-6-(5-Бромпиридин-2-ил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин получали следующим образом.

Получение (1S,3R)-1-(5-бромпиридин-2-ил)-3,5-диметил-2-(2,2,2-трифторэтил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин



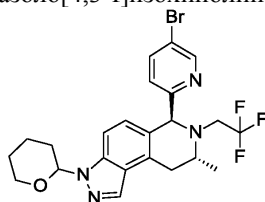
(R)-2-Метил-3-(2-((2,2,2-трифторэтил)амино)пропил)анилин (0,290 г, 1,18 ммоль) и 5-бромпиридинальдегид (0,460 г, 2,47 ммоль) нагревали в уксусной кислоте (6 мл) и воде (0,1 мл) до 70°C в течение 30 мин. Реакционную смесь выпаривали и остаток растворяли в этаноле (10 мл). Добавляли ацетат калия (0,290 г, 2,95 ммоль) и гидрохлорид гидроксилamina (0,123 г, 1,77 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Реакционную смесь выпаривали и остаток разделяли между DCM (30 мл) и насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (30 мл). Органическую фазу выпаривали и неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 50% EtOAc в гептане, с получением (1S,3R)-1-(5-бромпиридин-2-ил)-3,5-диметил-2-(2,2,2-трифторэтил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (0,264 г, 54%) в виде бесцветной сухой пленки.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO, 27°C) 1,03 (3H, d), 1,94 (3H, s), 2,45 (1H, dd), 2,67 (1H, dd), 2,90 (1H, dd), 3,22-3,29 (1H, m), 3,49 (1H, dd), 4,69 (2H, s), 4,85 (1H, s), 6,40-6,46 (2H, m), 7,21 (1H, d), 7,95 (1H, dd), 8,56 (1H, dd);

^{19}F ЯМР (471 МГц, DMSO, 27°C) 69,83;

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 414/416$.

Получение (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина

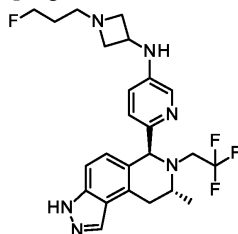


Добавляли нитрит натрия (0,048 г, 0,70 ммоль) в воде (0,2 мл) к охлажденному раствору (1S,3R)-1-(5-бромпиридин-2-ил)-3,5-диметил-2-(2,2,2-трифторэтил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (0,264 г, 0,64 ммоль) в пропионовой кислоте (2,5 мл) при -10°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч, затем добавляли ледяной EtOAc (10 мл). Реакционную смесь гасили путем добавления водного насыщенного раствора бикарбоната натрия (15 мл) и перемешивали в течение 15 мин перед тем, как обеспечивали нагревание до комнатной температуры. Органическую фазу высушивали (Na_2SO_4) и выпаривали с получением неочищенного (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (0,272 г, 0,64 ммоль) в виде коричневой смолы. Материал растворяли в DCM (10 мл) и добавляли гидрат пара-толуолсульфоновой кислоты (0,012 г, 0,06 ммоль) и смесь нагревали при 40°C в течение 2 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM (20 мл) и промывали с помощью водного раствора NaOH (2 М, 30 мл). Органическую фазу выпаривали до темно-коричневого масла и неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 40% EtOAc в гептане, с получением (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (0,142 г, 44%).

Масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 509/511$.

Альтернативный способ № 1 для примера 17.

Получение N-[1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил]-6-[(6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-3,6,8,9-тетрагидропиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил]пиридин-3-амина



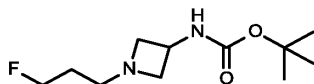
Трифторуксусную кислоту (1,30 л, 17,04 моль) добавляли к перемешиваемому раствору трет-бутил(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)карбамата (0,50 кг, 2,04 моль) в DCM (1,50 л) при 0°C на протяжении 0,5 ч. Обеспечивали нагревание смеси до 20°C и перемешивали при 20°C в течение 2,5 ч. Смесь нагревали до 30°C и перемешивание продолжали в течение 1 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток концентрировали при пониженном давлении из толуола (3×3,00 л). Полученный остаток растворяли в 1,4-диоксане (3,00 л) и обрабатывали с помощью 30% раствора 2-метилбутан-2-олат натрия в Me-THF (5,50 л, 13,63 моль) на протяжении 45 мин, обеспечивая, чтобы температура не превышала 29°C. Добавляли раствор 90% вес/вес (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (0,81 кг, 1,70 моль) в 1,4-диоксане (1,50 л) и BrettPhos Pd G3 (0,077 кг, 0,085 моль) и атмосферу заменяли азотом с применением циклов вакуума и азота (3×). Смесь нагревали до 55°C и перемешивали при 55°C 2,5 ч. Смесь охлаждали до 21°C и добавляли 8% раствор NaHCO₃ в воде (7,16 л, 6,82 моль) с последующим добавлением изопропилацетата (4,50 л). Смесь перемешивали в течение 2-3 мин и слои разделяли. Органический слой промывали с помощью 8% раствора NaHCO₃ в воде (7,16 л, 6,82 моль), перемешивали смесь в течение 5 мин и затем слои разделяли. Объединенные водные слои экстрагировали с помощью изопропилацетата (4,50 л). Объединенные органические слои обрабатывали с помощью Silicycle (SiliaMetS-Thiol, 400 г, 1,26 ммоль/г, 6 экв. относительно Pd) и смесь перемешивали в течение 16 ч. Твердые вещества удаляли посредством фильтрации через целит с промыванием осадка на фильтре изопропилацетатом. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении (температура бани 40°C). Остаток растворяли в изопропилацетате (5,00 л) и обрабатывали дополнительным количеством Silicycle (SiliaMetS-Thiol, 250 г, 1,26 ммоль/г, 3,7 экв. относительно Pd). Полученную смесь перемешивали при 21°C в течение 16 ч. Твердые вещества удаляли посредством фильтрации через целит с промыванием осадка на фильтре изопропилацетатом (2,50 л). Фильтрат концентрировали при пониженном давлении (температура бани 40°C) с получением коричневой пены. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной SFC (колонка Lux C4, 50 мм в диаметре, 250 мм в длину) с применением градиентного элюирования EtOH/DEA 100/0,5 в CO₂, подвижная фаза при 140 бар при скорости потока 400 мл/мин при 40°C) с получением твердого вещества, представляющего собой светло-коричневую пену. Добавляли EtOAc (2,00 л) и раствор концентрировали при пониженном давлении. Добавляли EtOAc (1,90 л) и гептан (1,90 л) и в смесь вводили затравку при 25°C. Смесь поддерживали при 25°C в течение 1 ч. К перемешиваемой смеси добавляли гептан (6,50 л) на протяжении 2 ч. Полученную смесь перемешивали при 22°C в течение 18 ч. Полученное твердое вещество собирали посредством фильтрации с промыванием осадка на фильтре с помощью смеси EtOAc/гептан 1:5 (2,50 л). Твердое вещество отсасывали в атмосфере азота в течение 30 мин, затем высушивали под вакуумом при 40°C в течение 9 дней с получением N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин (626 г, 77%) в виде грязно-белого твердого вещества.

¹H ЯМР (600 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 1,07 (3H, d), 1,63 (2H, d, quin), 2,45 (2H, t), 2,72 (2H, br t), 2,83 (1H, br dd), 2,91-3,00 (1H, m), 3,06 (1H, br dd), 3,42-3,55 (2H, m), 3,58-3,65 (2H, m), 3,92 (1H, d, quin), 4,43 (2H, dt), 4,92 (1H, s), 6,22 (1H, d), 6,79 (1H, d), 6,82 (1H, dd), 6,96 (1H, d), 7,21 (1H, d), 7,73 (1H, d), 8,04 (1H, s), 12,96 (1H, s);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 477.

Процедуры, применяемые для получения исходных материалов, представляющих собой трет-бутил(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)карбамат и (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин, описаны ниже.

Получение трет-бутил(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)карбамата

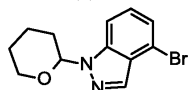


Реакцию осуществляли в двух повторностях и полученное объединяли для обработки. 1-Фтор-3-йодпропан (189 г, 1,00 моль) добавляли к перемешиваемой смеси трет-бутил-N-(азетидин-3-ил)карбамата; гидрохлорида (200 г, 0,96 моль) и K₂CO₃ (331 г, 2,40 моль) в THF (1,40 л) и воде

(0,50 моль) при 20°C. Реакционную смесь нагревали до 70°C и перемешивали при 70°C в течение 1,5 ч. Две реакционные смеси объединяли и добавляли в воду (2,5 л) и EtOAc (2,0 л). Смесь перемешивали при 21°C в течение 3 мин. Слои разделяли и органический слой промывали водой (2×2,0 л) и насыщенным раствором хлорида аммония (2,0 л). Органический слой концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Добавляли толуол (400 мл) и смесь нагревали до 60°C. Добавляли гептан (1,6 л), и обеспечивали охлаждение смеси до 21°C, и перемешивали в течение 15 мин. Твердое вещество собирали посредством фильтрации и отсасывали с получением трет-бутил(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)карбамата (230 г, 52%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃, 27°C) 1,44 (9H, s), 1,68-1,80 (2H, m), 2,56 (2H, t), 2,87 (2H, s), 3,66 (2H, t), 4,29 (1H, s), 4,43 (1H, t), 4,52 (1H, t), 4,86 (1H, s).

Получение 4-бром-1-тетрагидропиран-2-илиндазола

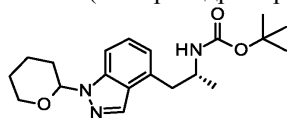


К взвеси 4-бром-1H-индазола (1,50 кг, 7,60 моль) и 3,4-дигидро-2H-пирана (0,96 кг, 11,40 моль) в DCM (2,40 л) добавляли гидрат 4-метилбензолсульфоновой кислоты (11,60 г, 0,06 моль) при 20°C в атмосфере азота. Полученную взвесь перемешивали при 20°C-29°C (незначительный экзотермический эффект) в течение 110 мин. Полученный раствор промывали насыщенным водным раствором NaHCO₃, (2,00 л) и органический слой выпаривали при пониженном давлении. Добавляли горячий (70°C) гептан (2,50 л) и смесь выпаривали при пониженном давлении с получением кристаллического твердого вещества. Проводили очистку посредством перекристаллизации из горячего (70°C) гептана (7,00 л) с обеспечением медленного охлаждения раствора до 34°C. Полученное твердое вещество собирали посредством фильтрации и промывали с помощью холодного гептана с получением 4-бром-1-тетрагидропиран-2-илиндазола (1,87 кг, 87%) в виде кристаллического твердого вещества.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 1,54-1,66 (2H, m), 1,67-1,85 (1H, m), 1,94-2,09 (2H, m), 2,31-2,45 (1H, m), 3,70-3,81 (1H, m), 3,83-3,97 (1H, m), 5,88 (1H, dd), 7,32-7,39 (1H, m), 7,40-7,44 (1H, m), 7,79 (1H, dt), 8,09 (1H, d);

масса/заряд: ES- [M-H]⁻ 282.

Получение трет-бутил-N-[(1R)-1-метил-2-(1-тетрагидропиран-2-илиндазол-4-ил)этил]карбамата

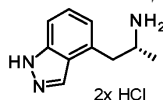


Раствор 4-бром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазола (0,70 кг, 2,49 моль) в THF (3,50 л) постепенно охлаждали с шагами, составляющими 10°C, до -70°C. Добавляли 2,5 М бутиллитий в гексанах (1,10 л, 2,74 моль) на протяжении 70 мин, поддерживая внутреннюю температуру ниже -60°C. Полученную смесь перемешивали при -72°C в течение 1 ч. Добавляли 2,3 М гексиллитий в гексанах (0,054 л, 0,12 моль) с последующим добавлением раствора трет-бутил(R)-4-метил-1,2,3-оксатиазолидин-3-карбоксилата 2,2-диоксида (652 г, 2,74 моль) в THF (2,80 л) на протяжении 2 ч, обеспечивая, чтобы внутренняя температура не превышала -58°C. Полученную смесь перемешивали при -60°C в течение 16 ч. Смесь медленно нагревали до -10°C на протяжении 1,5 ч. Осторожно добавляли воду (2,10 л). Слои разделяли, и органический слой промывали насыщенным соевым раствором (1,40 л) и органический слой концентрировали при пониженном давлении с получением масла. Добавляли IPA (1,50 л) и смесь концентрировали при пониженном давлении с получением трет-бутил((2R)-1-(1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамата (1,27 кг, >100%) в виде коричневого масла. Полученное брали без дополнительной очистки.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃, 27°C) 1,08 (3H, dd), 1,43 (9H, s), 1,63-1,69 (1H, m), 1,73-1,82 (2H, m), 2,07 (1H, dd), 2,17 (1H, dd), 2,53-2,64 (1H, m), 2,95 (1H, s), 3,21 (1H, dt), 3,70-3,80 (1H, m), 3,97-4,12 (2H, m), 4,33-4,49 (1H, m), 5,71 (1H, ddd), 6,96 (1H, dd), 7,31 (1H, ddd), 7,46 (1H, d), 8,13 (1H, s);

масса/заряд: ES⁺ [M]⁺ 359

Получение (2R)-1-(1H-индазол-4-ил)пропан-2-амин дигидрохлорида



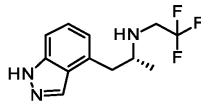
Добавляли 12 М HCl (1,00 л, 12,0 моль) на протяжении 20 мин к перемешиваемому раствору трет-бутил ((2R)-1-(1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамата (1,27 кг, 1,76 моль) в IPA (1,50 л), поддерживая внутреннюю температуру ниже 30°C. Полученную смесь нагревали до 40°C и перемешивали при 40°C в течение 16 ч. Температуру повышали до 55°C и добавляли дополнительную порцию 12 М HCl (0,20 л, 2,40 моль), и перемешивание продолжали в течение 7 ч. Добавляли МТВЕ (2,50 л) и обеспечивали перемешивание смеси при 25°C в течение 16 ч. Полученное твердое вещество собирали посредством фильтрации и осадок на фильтре промывали с помощью 10% IPA в

MTBE (2,00 л). Полученное твердое вещество высушивали при пониженном давлении при 40°C в течение 72 ч с получением (2R)-1-(1H-индазол-4-ил)пропан-2-амин; дигидрохлорида (0,39 кг, 89%) в виде грязно-белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO, 27°C) 1,12 (3H, d), 2,96 (1H, dd), 3,39 (1H, dd), 3,45- 3,55 (1H, m), 6,94 (1H, d), 7,28 (1H, dd), 7,43 (1H, d), 8,23 (3H, s), 8,28 (1H, d);

масса/заряд: ES⁺ [M⁺] 175.

Получение (2R)-1-(1H-индазол-4-ил)-N-(2,2,2-трифторэтил)пропан-2-амин

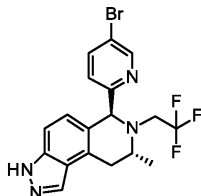


Раствор 2,2,2-трифторэтилтрифторметансульфоната (0,73 кг, 2,94 моль) в MeCN (2,00 л) добавляли к перемешиваемой смеси (R)-1-(1H-индазол-4-ил)пропан-2-амин дигидрохлорида (0,77 кг, 2,94 моль) и K₂CO₃ (1,26 кг, 9,13 моль) в MeCN (8,00 л) при 25°C в атмосфере азота. Полученную смесь нагревали до 60°C и перемешивали при 60°C в течение 18 ч. Добавляли MeCN (5,00 л) и твердые вещества удаляли посредством фильтрации. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и полученное твердое вещество растворяли в EtOAc (10,00 л), промывали водой (4,0 л) и разбавляли насыщенным водным раствором хлорида натрия (4,8 л). Органический слой концентрировали при пониженном давлении с получением (2R)-1-(1H-индазол-4-ил)-N-(2,2,2-трифторэтил)пропан-2-амин (0,73 кг, 96%).

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃, 27°C) 1,12 (3H, d), 2,96 (1H, dd), 3,08 (1H, dd), 3,14-3,33 (3H, m), 6,98 (1H, d), 7,32 (1H, dd), 7,37-7,41 (1H, m), 8,13 (1H, d), 10,86 (1H, s);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 257.

Получение (6S,8R)-6-(5-бром-2-пиридил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-3,6,8,9-тетрагидропиразоло[4,3-f]изохинолина



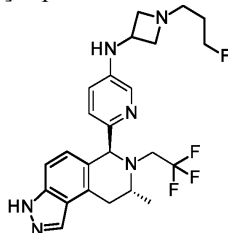
Трифторуксусную кислоту (0,66 л, 8,66 моль) медленно добавляли к перемешиваемой смеси 5-бромпиколиналидегида (0,55 кг, 2,89 моль) и (R)-1-(1H-индазол-4-ил)-N-(2,2,2-трифторэтил)пропан-2-амин (0,83 кг, 2,89 моль) в толуоле (7,30 л) при 21°C. Полученный раствор нагревали до 80°C и перемешивали при 80°C в течение 18 ч. Температуру повышали до 90°C и нагревание продолжали в течение 4 ч. Обеспечивали охлаждение смеси до 80°C и добавляли дополнительную порцию 5-бромпиколиналидегида (0,015 кг, 0,081 моль) и раствор перемешивали при 80°C в течение 16 ч. Обеспечивали охлаждение смеси до 21°C и добавляли насыщенный водный раствор NaHCO₃ (6,60 л) на протяжении 20 мин. Добавляли EtOAc (5,00 л) и слои разделяли. Органический слой промывали насыщенным водным раствором NaHCO₃ (3,30 л) и концентрировали при пониженном давлении. Добавляли этанол и смесь концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта в виде рассыпчатого твердого вещества. цис-Изомер удаляли посредством препаративной SFC (колонка SuperSep 1 (заполненная CelluCoat™ 10 мкм), 50 мм в диаметре, 250 мм в длину), элюирование 28% EtOH в CO₂, подвижная фаза при 140 бар при скорости потока 450 мл/мин при 30°C) с получением с получением (6S,8R)-6-(5-бром-2-пиридил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-3,6,8,9-тетрагидропиразоло[4,3-f]изохинолина (0,94 кг, 77%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃, 27°C) 1,16 (3H, d), 2,89 (1H, dd), 2,99 (1H, dq), 3,25-3,34 (2H, m), 3,55 (1H, td), 5,10 (1H, s), 6,93 (1H, d), 7,22 (1H, d), 7,40 (1H, d), 7,75 (1H, dd), 8,05 (1H, d), 8,56 (1H, dd), 10,24 (1H, s);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 427.

Альтернативный способ № 2 для примера 17.

Получение N-[(3-фторпропил)азетидин-3-ил]-6-[(6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-3,6,8,9-тетрагидропиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил]пиридин-3-амин



1-(3-Фторпропил)азетидин-3-амин (6,31 г, 37,98 ммоль) добавляли к раствору (6S,8R)-6-(5-

бромпиридин-2-ил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (15,47 г, 34,92 ммоль) в 1,4-диоксане (175 мл). Полученный раствор дегазировали под вакуумом в течение 5 мин, затем заполняли азотом (×2). Добавляли трет-бутоксид натрия (13,43 г, 139,69 ммоль) с последующим добавлением прекатализатора BrettPhos 3-го поколения (0,95 г, 1,05 ммоль). Полученную смесь нагревали при 55°C в течение 18 ч. Смесь выливали в EtOAc и воду. Добавляли насыщенный солевой раствор и слои разделяли. Органический слой промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (×3) и объединенные водные слои экстрагировали с помощью EtOAc.

Объединенные органические слои высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 50% метанола в этилацетате. Фракции, содержащие необходимый продукт, объединяли, концентрировали при пониженном давлении и затем повторно очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 40% EtOAc в гексанах, с получением красно-оранжевого твердого вещества. Данное твердое вещество растворяли в 10% MeOH в DCM, фильтровали, промывали осадок на фильтре с помощью DCM. Объединенные фильтраты концентрировали при пониженном давлении с получением N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин (15,28 г, 92%) в виде твердого вещества, представляющего собой светло-оранжевую пену. транс- и цис-Изомеры разделяли посредством препаративной SFC (колонка (S,S) Whelk-O1, 30 мм в диаметре, 250 мм в длину) с элюированием с помощью 30% (0,2% NH₄OH в MeOH) в CO₂, подвижная фаза при 100 бар при скорости потока 20 мл/мин при 40°C). Фракции, содержащие транс-изомер, концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток дополнительно очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 30% MeOH в EtOAc. Фракции, содержащие необходимый продукт, концентрировали при пониженном давлении, затем концентрировали из MeCN (×2) с получением N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин (10,76 г, 74%) в виде бледно-желтой пены/твердого вещества.

¹H ЯМР (600 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 1,07 (3H, d) 1,63 (2H, d, quin), 2,45 (2H, t), 2,72 (2H, br t), 2,83 (1H, br dd), 2,91-3,00 (1H, m), 3,06 (1H, br dd) 3,42-3,55 (2H, m), 3,58-3,65 (2H, m), 3,92 (1H, d, quin) 4,43 (2H, dt) 4,92 (1H, s), 6,22 (1H, d), 6,79 (1H, d) 6,82 (1H, dd), 6,96 (1H, d), 7,21 (1H, d), 7,73 (1H, d), 8,04 (1H, s), 12,96 (1H, s);

масса/заряд: ES⁺(M+H)+477.

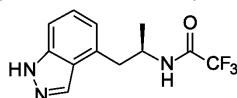
Фракции из SFC, содержащие цис-изомер, концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток дополнительно очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 30% MeOH в EtOAc. Фракции, содержащие необходимый продукт, концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток фильтровали с получением N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6R,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин (1,13 г, 8%) в виде твердого вещества, представляющего собой светло-желтую пену.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 1,28 (3H, d), 1,55-1,75 (2H, m), 2,42-2,49 (2H, m), 2,76 (2H, br t), 2,80-2,92 (1H, m), 3,07-3,18 (1H, m), 3,18-3,28 (1H, m), 3,38-3,54 (2H, m), 3,59-3,70 (2H, m), 3,95 (1H, sxt), 4,45 (2H, dt), 5,11 (1H, s), 6,21 (1H, d), 6,72 (1H, d), 6,82 (1H, dd), 7,02 (1H, d), 7,19 (1H, d), 7,78 (1H, d), 8,06 (1H, s), 12,94 (1H, s);

масса/заряд: ES⁺(M+H)+477.

Процедуры, применяемые для получения исходного материала, представляющего собой (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин, описаны ниже.

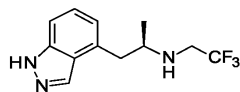
Получение 2,2,2-трифтор-N-[(1R)-2-(1H-индазол-4-ил)-1-метилэтил]ацетамида



Добавляли TEA (26,0 мл, 186,5 ммоль) с помощью шприца к перемешиваемой взвеси (R)-1-(1H-индазол-4-ил)пропан-2-амин дигидрохлорида (15,29 г, 61,61 ммоль) и этил-2,2,2-трифторацетата (8,09 мл, 67,8 ммоль) в MeOH (150 мл) при комнатной температуре. Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч, затем концентрировали при пониженном давлении. Затем полученное твердое вещество растворяли в DCM (40 мл) и осаждали остаточный гидрохлорид триэтиламина путем добавления Et₂O (300 мл). Взвесь перемешивали в течение 5 мин, затем фильтровали и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением твердого вещества. Твердое вещество растворяли в EtOAc и насыщенным водным раствором хлорида натрия. Слои разделяли и органический слой промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали с получением (R)-N-(1-(1H-индазол-4-ил)пропан-2-ил)-2,2,2-трифторацетамида (16,51 г, 99%) в виде грязно-белого твердого вещества.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO- d_6 , 27°C) 1,19 (3H, d), 3,03 (1H, dd), 3,13 (1H, dd), 4,13-4,30 (1H, m), 6,89 (1H, d), 7,25 (1H, dd), 7,38 (1H, d), 8,18 (1H, t), 9,35 (1H, br d), 13,01 (1H, s);
масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ 272$.

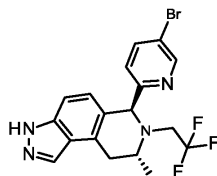
Получение (2R)-1-(1H-индазол-4-ил)-N-(2,2,2-трифторэтил)пропан-2-амина



Комплекс 1 М боран-THF в THF (365 мл, 365,0 ммоль) быстро добавляли по каплям через канюлю к перемешиваемому раствору (R)-N-(1-(1H-индазол-4-ил)пропан-2-ил)-2,2,2-трифторацетамида (16,5 г, 60,8 ммоль) в THF (100 мл) при комнатной температуре (выделение газа; незначительный экзотермический эффект, наблюдаемый в ходе добавления). Затем реакционную смесь нагревали при 60°C в течение 15,5 ч, затем обеспечивали охлаждение до комнатной температуры. Реакционную смесь помещали в водяную баню при температуре окружающей среды и медленно добавляли по каплям MeOH (80 мл). Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток растворяли в MeOH (80 мл) и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в MeOH (250 мл) и помещали в водяную баню при температуре окружающей среды. Добавляли взвесь 10% палладия на угле (6,47 г, 6,08 ммоль) в MeOH (90 мл), ополаскивая колбу с помощью MeOH (10 мл) (отмечали незначительное выделение газа). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение приблизительно 3 мин, затем нагревали при 65°C в течение 2 ч. После охлаждения до комнатной температуры смесь фильтровали через целит и концентрировали при пониженном давлении. Бледно-желтый остаток растворяли в DCM и фильтровали и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 10 до 60% EtOAc в гексанах. Фракции, содержащие необходимый продукт, концентрировали при пониженном давлении с получением (R)-1-(1H-индазол-4-ил)-N-(2,2,2-трифторэтил)пропан-2-амина (14,21 г, 86%) в виде бледно-желтого масла.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO- d_6 , 27°C) 0,91 (3H, d), 2,17-2,30 (1H, m), 2,71 (1H, dd), 2,98-3,17 (2H, m), 3,22-3,38 (2H, m), 6,89 (1H, d), 7,24 (1H, dd), 7,35 (1H, d), 8,12 (1H, t), 12,97 (1H, br s);
масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ 258$.

Получение (6S,8R)-6-(5-бром-2-пиридил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-3,6,8,9-тетрагидропиразоло[4,3-f]изохинолина



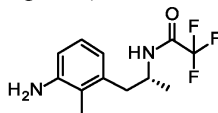
5-Бромпиколиналидегид (9,80 г, 52,7 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору (R)-1-(1H-индазол-4-ил)-N-(2,2,2-трифторэтил)пропан-2-амина (14,05 г, 51,66 ммоль) в толуоле (246 мл) в атмосфере азота. Затем добавляли трифторуксусную кислоту (12,30 мл) и реакционную смесь нагревали при 90°C в течение 4,5 ч. Обеспечивали охлаждение смеси до комнатной температуры и добавляли EtOAc (200 мл). Смесь охлаждали до 5°C и смесь подщелачивали путем медленного добавления насыщенного водного раствора NaHCO_3 . Полученные слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (2x80 мл). Объединенные органические экстракты промывали насыщенным водным раствором NaHCO_3 , насыщенным водным раствором хлорида натрия, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 5 до 60% EtOAc в гексанах. Фракции, содержащие необходимый продукт, концентрировали при пониженном давлении, затем высушивали in vacuo при 50°C в течение 3 ч с получением (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (19,29 г, 88%) в виде бледно-оранжевого твердого вещества. С помощью анализа ^1H ЯМР выявлены транс-/цис-изомеры 10:1.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO- d_6 , 27°C) 1,10 (3H, d), 2,83-2,94 (1H, m), 2,95-3,14 (2H, m), 3,34-3,47 (1H, m), 3,49-3,72 (1H, m), 5,10 (1H, s), 6,88 (1H, d), 7,25 (1H, d), 7,33 (1H, d), 7,99 (1H, dd), 8,06 (1H, d), 8,56 (1H, d), 13,00 (1H, s);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ 425$.

Альтернативные способы для промежуточных соединений, применяемых в синтезе примера 17.

Получение N-[(1R)-2-(3-аминопропил)-2-метилфенил]-1-метилэтил]-2,2,2-трифторацетамида



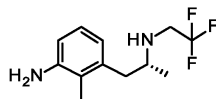
Раствор (R)-3-(2-аминопропил)-2-метиланилина (0,51 г, 3,13 ммоль), DIPEA (0,55 мл, 3,13 ммоль) и

этил-2,2,2-трифторацетата (0,47 мл, 3,91 ммоль) в MeOH (9,5 мл) перемешивали при комнатной температуре в атмосфере азота в течение 16 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Добавляли DCM и воду и слои разделяли. Водный слой экстрагировали с помощью DCM (3×50 мл) и объединенные органические слои высушивали (Na₂SO₄) и фильтровали. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 100% EtOAc в гексане. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением N-[(1R)-2-(3-амино-2-метилфенил)-1-метилэтил]-2,2,2-трифторацетамида (680 мг, 83%).

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 1,06-1,14 (m, 3H), 2,01 (s, 3H), 2,54-2,71 (m, 1H), 2,72-2,84 (m, 1H), 4,04-4,12 (m, 1H), 4,60-4,77 (m, 2H), 6,24-6,37 (m, 1H), 6,43-6,52 (m, 1H), 6,72-6,84 (m, 1H), 9,19-9,32 (m, 1H);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 261.

Получение 2-метил-3-[(2R)-2-(2,2,2-трифторэтиламино)пропил]анилина

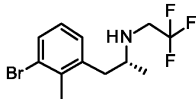


1,0 M боран в THF, в THF (19,4 мл, 19,37 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору (R)-N-(1-(3-амино-2-метилфенил)пропан-2-ил)-2,2,2-трифторацетамида (840 мг, 3,23 ммоль) в THF (10 мл). Реакционную смесь нагревали при 65°C в атмосфере азота в течение 6 ч. Обеспечивали охлаждение смеси до комнатной температуры и осторожно добавляли MeOH. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин и затем концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в MeOH и нагревали до 65°C в течение 6 ч. Обеспечивали охлаждение смеси до комнатной температуры и затем концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 100% EtOAc в гексане. Фракции, содержащие продукт, выпаривали до сухого состояния с получением 2-метил-3-[(2R)-2-(2,2,2-трифторэтиламино)пропил]анилина (665 мг, 84%).

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 0,89 (s, 3H), 1,98 (s, 3H), 2,08-2,22 (m, 1H), 2,25-2,42 (m, 1H), 2,69-2,87 (m, 2H), 3,15-3,29 (m, 2H), 4,61-4,75 (m, 2H), 6,30-6,40 (m, 1H), 6,43-6,54 (m, 1H), 6,71-6,83 (m, 1H);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 247.

Получение (2R)-1-(3-бром-2-метилфенил)-N-(2,2,2-трифторэтил)пропан-2-амин

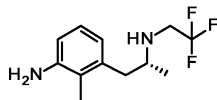


DIPEA (2,99 мл, 17,10 ммоль) добавляли к (R)-1-(3-бром-2-метилфенил)пропан-2-амину (1,30 г, 5,70 ммоль) и 2,2,2-трифторэтилтрифторметансульфонату (0,23 М в DCM, 29,7 мл, 6,84 ммоль) в 1,4-диоксане (25 мл) при комнатной температуре в атмосфере азота. Полученную смесь перемешивали при 85°C в течение 16 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 50% EtOAc в гептане. Фракции, содержащие продукт, концентрировали при пониженном давлении с получением (R)-1-(3-бром-2-метилфенил)-N-(2,2,2-трифторэтил)пропан-2-амин (0,56 г, 32%) в виде масла.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO, 27°C) 0,91 (3H, d), 2,26 (1H, q), 2,34 (3H, s), 2,78-2,86 (1H, m), 2,89 (1H, dd), 3,19-3,28 (2H, m), 7,01-7,06 (1H, m), 7,15 (1H, dd), 7,43 (1H, dd);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 310/312.

Получение 2-метил-3-[(2R)-2-(2,2,2-трифторэтиламино)пропил]анилина



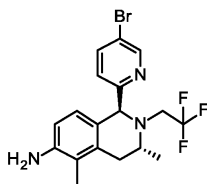
трис-(Дибензилиденацетон)дипалладий(0) (0,050 г, 0,05 ммоль) и (±)-2,2'-бис-(дифенилфосфино)-1,1'-бинафталин (0,067 г, 0,11 ммоль) добавляли к суспензии (R)-1-(3-бром-2-метилфенил)-N-(2,2,2-трифторэтил)пропан-2-амин (0,56 г, 1,81 ммоль), бензофенонимина (0,33 мл, 1,99 ммоль) и трет-бутоксид натрия (0,26 г, 2,71 ммоль) в дегазированном толуоле (7 мл) и реакционную смесь нагревали до 90°C в течение 16 ч. После охлаждения до комнатной температуры смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в DCM (50 мл) и промывали водой (50 мл). Водный слой экстрагировали с помощью DCM (25 мл) и объединенные органические вещества концентрировали до ~25 мл. Добавляли 2 М раствор HCl (50 мл) и двухфазную смесь энергично перемешивали в течение 30 мин. Слои разделяли и водный слой промывали с помощью DCM. Водную фазу подщелачивали путем добавления 2 М водного раствора NaOH. Полученную смесь экстрагировали с помощью DCM (2×100 мл) и объединенные органические экстракты концентрировали при пониженном давлении с получением

(R)-2-метил-3-(2-((2,2,2-трифторэтил)амино)пропил)анилина (0,31 г, 70%) в виде масла.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO, 27°C) 0,90 (3H, d), 1,98 (3H, s), 2,12-2,18 (1H, m), 2,30-2,36 (1H, m), 2,74-2,82 (2H, m), 3,17-3,29 (2H, m), 4,69 (2H, s), 6,35 (1H, dd), 6,48 (1H, dd), 6,78 (1H, t);

$\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 247$.

Получение (1S,3R)-1-(5-бром-2-пиридил)-3,5-диметил-2-(2,2,2-трифторэтил)-3,4-дигидро-1H-изохинолин-6-амина

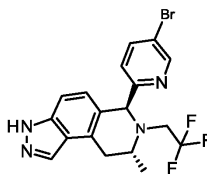


Соль трифторметансульфоновой кислоты и иттербия(III) (0,17 г, 0,27 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору (R)-2-метил-3-(2-((2,2,2-трифторэтил)амино)пропил)анилина (1,35 г, 5,49 ммоль), 5-бромпиридинальдегида (1,02 г, 5,49 ммоль) и воды (0,49 мл, 27,43 ммоль) в MeCN (21,5 мл). Полученный раствор перемешивали при 80°C в течение 1 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток загружали в сухом виде на силикагель и очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 10 до 30% EtOAc в гексане. Фракции, содержащие необходимый продукт, концентрировали до сухого состояния с получением (1S,3R)-1-(5-бромпиридин-2-ил)-3,5-диметил-2-(2,2,2-трифторэтил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина (2,22 г, 98%) в виде желтоватой смолы.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO- d_6 , 27°C) 0,88 (3H, d), 1,91 (3H, s), 2,37-2,46 (1H, m), 2,60-2,76 (1H, m), 2,76-3,00 (1H, m), 3,15-3,28 (1H, m), 3,34-3,63 (1H, m), 4,65 (2H, s), 4,85 (1H, s), 6,19-6,52 (2H, m), 7,10-7,31 (1H, m), 7,97 (1H, dd), 8,62 (1H, d);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 414$.

Получение (6S,8R)-6-(5-бром-2-пиридил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-3,6,8,9-тетрагидропиразоло[4,3-f]изохинолина

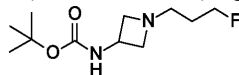


(1S,3R)-1-(5-Бромпиридин-2-ил)-3,5-диметил-2-(2,2,2-трифторэтил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (2,21 г, 5,33 ммоль) в пропионовой кислоте (14,0 мл) охлаждали до -20°C. Раствор нитрита натрия (0,40 г, 5,86 ммоль) в воде (2,8 мл) добавляли по каплям на протяжении 5 мин, поддерживая температуру бани между -20 и -15°C. Полученную смесь перемешивали при -20°C в течение 45 мин. Толуол (80 мл), охлажденный до -15°C, выливали в реакционную смесь и реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин. Медленно добавляли раствор карбоната натрия (12,0 г, 113 ммоль) в воде (125 мл) и обеспечивали нагревание смеси до комнатной температуры. Добавляли EtOAc (100 мл) и слои разделяли. Водный слой экстрагировали с помощью CHCl_3/IPA (3:1) (100 мл). Объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 15 до 50% EtOAc в гексане. Фракции, содержащие продукт, выпаривали до сухого состояния с получением (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (1,63 г, 72%) в виде коричневого твердого вещества.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO- d_6 , 27°C) 1,10 (3H, d), 2,83-2,96 (1H, m), 2,96-3,14 (2H, m), 3,35-3,48 (1H, m), 3,49-3,73 (1H, m), 5,11 (1H, s), 6,87 (1H, d), 7,27 (1H, d), 7,35 (1H, d), 7,99 (1H, dd), 8,09 (1H, s), 8,53-8,63 (1H, m), 12,96 (1H, s);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 425$.

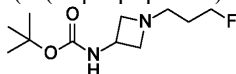
Получение трет-бутил(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)карбамата



Суспензию трет-бутилазетидин-3-илкарбамата (10,00 г, 58,06 ммоль), 1-фтор-3-йодпропана (11,13 г, 59,22 ммоль) и карбоната калия (16,05 г, 116,13 ммоль) в MeCN (200 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 дней. Твердые вещества удаляли посредством фильтрации и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток обрабатывали водой и экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические экстракты высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением трет-бутил(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)карбамата (13,40 г, 99%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

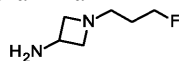
^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,45 (9H, s), 1,61-1,92 (2H, m), 2,51-2,67 (2H, m), 2,85 (2H, br s), 3,57-3,72 (2H, m), 4,30 (1H, br d), 4,36-4,63 (2H, m), 4,89 (1H, brd).

Альтернативное получение трет-бутил(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)карбамата



Добавляли ангидрид трифторметансульфоновой кислоты (2,31 мл, 13,75 ммоль) с последующим добавлением 2,6-диметилпиридина (1,74 мл, 15,00 ммоль) к раствору 3-фторпропан-1-ола (0,94 мл, 12,5 ммоль) в DCM (47 мл) при 0°C и реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Реакционную смесь промывали с помощью 1н. HCl, затем органический слой высушивали и осторожно выпаривали. Затем остаток добавляли в отдельный флакон, содержащий суспензию трет-бутилазетидин-3-илкарбамата (1,94 г, 11,25 ммоль) и DIPEA (3,24 мл, 18,75 ммоль) в смеси диоксан/DCM (1:1, 40 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре (экзотермический эффект при добавлении трифлата). Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM и промывали с помощью раствора NH₄Cl. Органический слой высушивали и выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 10% 1 М NH₃/MeOH в DCM. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением трет-бутил(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)карбамата (2,82 г, 97%) в виде лилового масла. ¹H ЯМР, как указано выше.

Получение 1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин



Трифторуксусную кислоту (39,8 мл, 517 ммоль) добавляли по каплям на протяжении 30 мин к раствору трет-бутил(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)карбамата (20,0 г, 86 ммоль) в DCM (67,8 мл), который был погружен в водяную баню. Через 18 ч реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении до оранжевого масла. Данное масло растворяли в 10% метаноле в DCM (125 мл) и добавляли карбонат калия (71,4 г, 517 ммоль) при интенсивном перемешивании. Через 15 мин. добавляли еще 30 г карбоната калия. Перемешивание становилось замедленным и добавляли целит (~15 г). Перемешивание продолжали в течение еще 15 мин и смесь фильтровали с промывкой с помощью 10% метанола в DCM. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении на роторном испарителе (давление: 100 мбар, температура водяной бани: 30°C) и полученное оранжевое масло очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния (λ обнаружения = 210 нм), градиент элюирования от 0 до 15% (2 М раствор аммиака в метаноле) в DCM с получением 1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (12,8 г), загрязненного 28 вес.% метанола, исходя из интегрирования при ЯМР, в виде желтого масла. Данный материал можно было непосредственно применять, хранить в морозильной камере для последующего применения или дополнительно очищать посредством вакуумной перегонки в соответствии со следующим примером. 1-(3-Фторпропил)азетидин-3-амин (14,8 г) в виде светло-желтого масла перегоняли с применением устройства для молекулярной перегонки при условиях охлаждения с помощью водяной рубашки под вакуумом (вакуумный насос). Колбу, содержащую амин, погружали в масляную баню и температуру бани постепенно повышали до 140°C в течение периода, составляющего 30 мин. Перегонка происходила при температуре бани 110-135°C и приблизительной температуре в верхней части, составляющей 70°C, с получением 1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (12,4 г, 84%) в виде прозрачного бесцветного масла. Данное масло хранили в морозильной камере до применения.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 1,52-1,70 (2H, m), 1,75 (2H, br s), 2,38 (2H, t), 2,43-2,48 (2H, m), 3,27-3,39 (1H, m), 3,42-3,48 (2H, m), 4,43 (2H, dt);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 133.

Пример 17А. Получение формы А (безводной формы) N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин

Способ 1.

4,0 мг аморфного N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин растворяли в 100 мкл EtOAc с образованием прозрачного раствора. Приблизительно 200 мкл гептана медленно добавляли к раствору, образовывалась мутная суспензия. Взвесь перемешивали при условиях окружающей среды в течение 3 дней. Получали кристаллический материал формы А.

Способ 2.

1,60 г аморфного N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин суспендировали в 15 мл смеси ацетон/Н₂O (10:1). Образовывалась взвесь, а затем образовывался гель. 10 мг формы А N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин в качестве затравки добавляли через 2 ч и суспензию перемешивали при температуре окружающей среды в течение 1 дня, при этом гель превращался в твердые осадки. Твердые осадки на стенке и дне ручным способом перемещали в раствор и получали гомогенную взвесь после перемешивания в течение 1 ч. Твердое вещество собирали посредством фильтрации

и промывали два раза с помощью 5,0 мл смеси ацетон/Н₂О (1:10) с последующей промывкой несколько раз с помощью Н₂О. Получали 1,45 г белого порошка (выход 90%) в виде формы А после высушивания в вакууме в течение 4 ч.

Способ 3.

501 мг аморфного материала, представляющего собой N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин, растворяли в 1,0 мл EtOAc с образованием коричневого раствора. К раствору медленно добавляли 1,0 мл гептана. В конце добавления начинало образовываться твердое вещество, но затем растворялось. 2-5 мг формы А N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин добавляли к прозрачному коричневому раствору, при этом начинало осаждаться твердое вещество. Суспензию перемешивали при температуре окружающей среды в течение 1 дня. Твердое вещество собирали посредством фильтрации и высушивали в атмосфере воздуха. Получали 345 мг грязно-белого порошка (выход: ~69%) в виде формы А.

Форму А из способа 2 анализировали посредством XRPD, и результаты приведены в табл. 1 и показаны на фиг. 1.

Таблица 1
Пики XRPD для формы А

Угол ($2\theta \pm 0,2^\circ$)	Интенсивность (%)
21,1	100,0
20,8	54,3
14,6	41,9
18,6	41,6
12,3	38,9
15,5	34,1
24,6	31,3
15,8	30,6
13,4	23,2
19,0	21,7

Форму А анализировали с помощью методик термического анализа. Результаты DSC-анализа указали на то, что форма А характеризуется точкой плавления с началом при 132°C и пиком при 137°C. Результаты TGA указали на то, что форма А характеризуется потерей массы приблизительно 0,2% при нагревании от приблизительно 25 до приблизительно 100°C. Иллюстративная термограмма DSC/TGA формы А показана на фиг. 2.

Пример 17В. Получение формы В N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин (сольвата с ТВМЕ).

100 мг N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин (аморфного материала) частично растворяли в 1,0 мл ТВМЕ. Суспензию перемешивали при условиях окружающей среды, при этом дополнительное количество твердого вещества осаждалось в суспензии. Взвесь перемешивали в течение 2 ч.

Форму В N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин идентифицировали, когда взвесь непосредственно отвешивали в держатель образца для определения характеристик с помощью XRPD. Форма В превращалась в форму С после того, как твердое вещество фильтровали и высушивали при условиях окружающей среды.

Форму В анализировали посредством XRPD, и результаты приведены в табл. 2 и показаны на фиг. 3.

Таблица 2
Пики XRPD для формы В

Угол ($2\theta \pm 0,2^\circ$)	Интенсивность (%)
6,0	100,0
17,8	67,0
18,4	34,9
16,3	30,3
21,5	29,2
12,3	27,0
17,2	24,8
13,4	23,3
18,1	21,6
15,6	20,6

Пример 17С. Получение формы С N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин (сольвата с ТВМЕ).

200 мг аморфного материала, представляющего собой N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин, практически полностью растворяли в 1 мл ТВМЕ. Суспензию перемешивали при условиях окружающей среды, при этом дополнительное количество твердого вещества осаждалось через 10 мин. Взвесь перемешивали в течение 2 ч и затем выпаривали при условиях окружающей среды. Получали форму С после того, как высушивали полученное твердое вещество при условиях окружающей среды.

Форму С анализировали посредством XRPD, и результаты приведены в табл. 3 и показаны на фиг. 4.

Таблица 3
Пики XRPD для формы С

Угол ($2\theta \pm 0,2^\circ$)	Интенсивность (%)
6,8	100,0
18,6	64,1
13,9	62,5
18,0	61,6
17,2	53,4
17,4	52,4
20,5	47,3
19,2	40,0
20,7	37,4
13,7	36,3

Форму С анализировали с помощью методик термического анализа. Результаты DSC-анализа указали на то, что форма С характеризовалась эндотермическим явлением десольватации с началом при 75°C и пиком при 84°C. Результаты TGA указали на то, что форма С характеризуется потерей массы приблизительно 7,1% при нагревании от приблизительно 25°C до приблизительно 150°C. Иллюстративная термограмма DSC/TGA формы С показана на фиг. 5.

Пример 17D. Получение формы D N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин (сольвата с СРМЕ).

150 мг аморфного материала, представляющего собой N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин, перемешивали в 2,0 мл СРМЕ (циклопентилметилловый эфир). После перемешивания в течение 1 дня твердое вещество выделяли посредством фильтрации и высушивали в атмосфере воздуха. Получали ~ 50 мг белого порошка, представляющего собой форму D.

Форму D анализировали посредством XRPD, и результаты приведены в табл. 4 и показаны на фиг. 6.

Таблица 4
Пики XRPD для формы D

Угол ($2\theta \pm 0,2^\circ$)	Интенсивность (%)
6,2	100,0
18,3	55,0
18,9	24,3
16,1	21,8
16,8	18,4
22,2	17,9
14,1	17,1
19,9	13,5
22,5	13,5
23,9	13,4

Форму D анализировали с помощью методик термического анализа. Результаты DSC-анализа указали на то, что форма D характеризуется эндотермическим явлением десольватации с началом при 76°C и пиком при 81°C с последующим другим эндотермическим явлением с началом при 128°C и пиком при 133°C. Результаты TGA указали на то, что форма D характеризуется потерей массы приблизительно 6,8% при нагревании от приблизительно 25°C до приблизительно 150°C. Иллюстративная термограмма DSC/TGA формы D показана на фиг. 7.

Пример 17Е. Получение формы Е (безводной формы) N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин

Способ 1.

100 мг аморфного N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин добавляли в 2,0 мл гептана с образованием взвеси. Добавляли 0,40 мл EtOAc. После перемешивания в течение 2 ч добавляли дополнительные 0,10 мл EtOAc к взвеси и взвесь перемешивали при условиях окружающей среды в течение 18 ч, при этом новую кристаллическую форму, форму Е, идентифицировали посредством XRPD. 75 мг белого твердого вещества формы Е получали после того, как твердое вещество выделяли и высушивали при условиях окружающей среды (выход: 75%).

Способ 2.

1,002 г аморфного N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин растворяли в 5,0 мл EtOAc с получением прозрачного светло-коричневого раствора. Добавляли 5,0 мл гептана, и раствор оставался прозрачным. Добавляли 10 мг формы Е N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин в качестве затравки и суспензию перемешивали при температуре окружающей среды. Твердое вещество начинало осаждаться при условиях окружающей среды и влажный осадок образовывался через 1 ч. 5,0 мл EtOAc медленно добавляли к взвеси и полученную взвесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 1 ч. Добавляли еще 10 мл гептана, начинало осаждаться дополнительное количество твердого вещества. После перемешивания при условиях окружающей среды в течение 2 ч взвесь нагревали до 60°C и перемешивали при 60°C в течение 2 ч. Взвесь охлаждали до температуры окружающей среды и перемешивали в течение 18 ч. Грязно-белое твердое вещество, представляющее собой форму Е, выделяли посредством фильтрации и промывали 3 раза с помощью смешанного растворителя EtOAc/гептан 1:4. 0,875 г бледно-белого порошка собирали после высушивания в атмосфере воздуха (выход: 87%).

Форму Е из способа 1 анализировали посредством XRPD, и результаты приведены в табл. 5 и показаны на фиг. 8.

Таблица 5
Пики XRPD для формы Е

Угол (2 θ ±0,2°)	Интенсивность (%)
17,9	100,0
14,8	67,1
20,9	60,1
23,1	55,4
16,2	49,3
20,0	35,6
18,2	32,9
12,3	30,4
22,2	19,0
13,9	18,9

Форму Е анализировали с помощью методик термического анализа. Результаты DSC-анализа указали на то, что форма Е характеризуется точкой плавления с началом при 126°C и пиком при 133°C. Результаты TGA указали на то, что форма Е характеризуется потерей массы приблизительно 0,8% при нагревании от приблизительно 25 до приблизительно 100°C. Иллюстративная термограмма DSC/TGA формы Е показана на фиг. 9.

Пример 17F. Получение формы F N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин (сольвата с гептаном).

20 мг аморфного N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин растворяли в 200 мкл ацетона. Медленно добавляли 1,0 мл гептана к раствору. Раствор начинал становиться мутным, и затем образовывалась взвесь. Взвесь перемешивали при температуре окружающей среды после добавления 1,0 мл гептана. Наблюдали иглообразные частицы во взвеси. Взвесь нагревали до 60°C и перемешивали в течение 2 ч и затем охлаждали до температуры окружающей среды. Образовывались игольчатые частицы.

Взвесь полученной формы F анализировали посредством XRPD и результаты показаны на фиг. 10. Кристалличность формы F уменьшалась во время определения характеристик посредством XRPD, и второй цикл XRPD свидетельствовал о получении аморфного материала после высушивания в держателе образца.

Пример 17F. Получение формы G N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин (сольвата с метилпентанонам).

100 мг аморфного N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин суспендировали в 200 мкл метилпентанона и добавляли 2-5 мг формы A N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин, при этом после перемешивания при условиях окружающей среды в течение 10 мин образовывался осадок. Добавляли 200 мкл метилпентанона, и образовывалась взвесь. Взвесь перемешивали при условиях окружающей среды в течение 18 ч. Результаты XRPD демонстрировали, что образовывалась кристаллическая форма, форма G N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин. Форму G превращали в частично аморфный материал после выделения и высушивания при условиях окружающей среды.

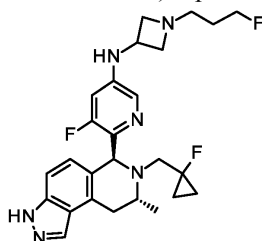
Форму G анализировали посредством XRPD, и результаты приведены в табл. 6 и показаны на фиг. 10.

Таблица 6
Пики XRPD для формы G

Угол ($2\theta \pm 0,2^\circ$)	Интенсивность (%)
6,2	100,0
18,1	95,9
16,6	38,8
18,7	37,5
21,9	36,5
15,9	33,9
22,4	28,1
19,7	26,4
14,0	24,6
12,6	23,9

Пример 18.

5-Фтор-6-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин



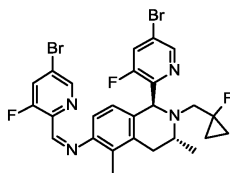
[(2-Дициклогексилфосфино-3,6-диметокси-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил)-2-(2'-амино-1,1'-бифенил)]палладия(II) метансульфонат (Brett Phos G3) (48,6 мг, 0,05 ммоль) добавляли к дегазированному раствору 1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (95 мг, 0,72 ммоль), (6S,8R)-6-(5-бром-3-фторпиридин-2-ил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (155 мг, 0,36 ммоль) и трет-бутоксид натрия (206 мг, 2,15 ммоль) в 1,4-диоксане (3 мл) в атмосфере азота. Полученный раствор перемешивали при 90°C в течение 2 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (50 мл) и последовательно промывали с помощью воды (50 мл) и насыщенного водного раствора хлорида натрия (50 мл). Органический слой высушивали с помощью $MgSO_4$, фильтровали и выпаривали с получением неочищенного продукта, который очищали посредством препаративной HPLC (колонка Waters XBridge Prep C18 OBD, 5 мкм диоксид кремния, 50 мм в диаметре, 100 мм в длину), с применением смесей воды (содержащей 0,1% NH_3) и MeCN с уменьшающейся полярностью в качестве элюентов. Фракции, содержащие необходимое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением 5-фтор-6-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин (39,0 мг, 22%) в виде белого твердого вещества.

1H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$, 27°C) 0,48-0,61 (2H, m), 0,92-1,09 (2H, m), 1,13 (3H, d), 1,68-1,83 (2H, m), 2,56-2,62 (2H, m), 2,67 (1H, dd), 2,86 (1H, dd), 2,90-2,95 (2H, m), 3,17 (1H, dd), 3,27 (1H, dd), 3,70 (2H, q), 3,87 (1H, td), 4,04 (1H, q), 4,21 (1H, d), 4,43 (1H, t), 4,53 (1H, t), 5,39 (1H, s), 6,50 (1H, dd), 6,79 (1H, d), 7,12 (1H, d), 7,68 (1H, d), 8,03 (1H, s);

масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 485$.

5-Фтор-6-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин получали следующим образом.

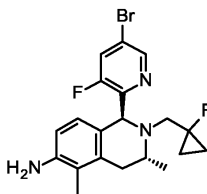
Получение 1-(5-бром-3-фторпиридин-2-ил)-N-((1S,3R)-1-(5-бром-3-фторпиридин-2-ил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-ил)метанимина



5-Бром-3-фторпиридинальдегид (1,09 г, 5,33 ммоль) добавляли к (R)-3-(2-(((1-фторциклопропил)метил)амино)пропил)-2-метиланилину (630 мг, 2,67 ммоль) и воде (0,240 мл, 13,33 ммоль) в уксусной кислоте (12 мл). Полученный раствор перемешивали при 70°C в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрировали и разбавляли с помощью EtOAc (50 мл) и последовательно промывали с помощью насыщенного водного раствора NaHCO₃ (50 мл). Органический слой высушивали с помощью MgSO₄, фильтровали и выпаривали с получением 1-(5-бром-3-фторпиридин-2-ил)-N-((1S,3R)-1-(5-бром-3-фторпиридин-2-ил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-ил)метанимина в виде неочищенного продукта (1,53 г, 2,51 ммоль).

Масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 607.

Получение (1S,3R)-1-(5-бром-3-фторпиридин-2-ил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин

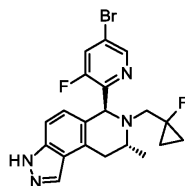


Гидрохлорид гидроксилamina (0,174 г, 2,51 ммоль) добавляли к 1-(5-бром-3-фторпиридин-2-ил)-N-((1S,3R)-1-(5-бром-3-фторпиридин-2-ил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-ил)метанимину (1,53 г, 2,51 ммоль) и ацетату калия (0,62 г, 6,27 ммоль) в MeOH (12 мл). Полученный раствор перемешивали при 20°C в течение 5 ч. Реакционную смесь концентрировали и разбавляли с помощью DCM (75 мл) и последовательно промывали с помощью NaOH (2 М, 75 мл) и насыщенного водного раствора хлорида натрия (50 мл). Органический слой высушивали с помощью MgSO₄, фильтровали и выпаривали с получением неочищенного продукта, который очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 20% EtOAc в гептане. Фракции, содержащие продукт, выпаривали до сухого состояния с получением (1S,3R)-1-(5-бром-3-фторпиридин-2-ил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (0,672 г, 63%) в виде бесцветной смолы.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃, 27°C) 0,45-0,61 (2H, m), 0,92-1,06 (2H, m), 1,07 (3H, d), 2,07 (3H, s), 2,51 (1H, dd), 2,59 (1H, dd), 2,85 (1H, dd), 3,13 (1H, dd), 3,52 (2H, s), 3,64-3,75 (1H, m), 5,35 (1H, s), 6,48 (2H, s), 7,52 (1H, dd), 8,36 (1H, dd);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 422/424.

Получение (6S,8R)-6-(5-бром-3-фторпиридин-2-ил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина



(1S,3R)-1-(5-Бром-3-фторпиридин-2-ил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (0,672 г, 1,59 ммоль) в пропионовой кислоте (6,63 мл) охлаждали до -17°C (сухой лед/ацетон). Нитрит натрия (0,110 г, 1,59 ммоль) в воде (1,33 мл) добавляли по каплям и реакционную смесь перемешивали при -17°C в течение 30 мин. Реакционную смесь разбавляли ледяным толуолом (30 мл), перемешивали при 0°C в течение 15 мин, затем при комнатной температуре в течение 45 мин. Реакционную смесь промывали водой (2×25 мл), объединенные водные фазы промывали с помощью EtOAc (25 мл), объединенные органические вещества промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл), высушивали (MgSO₄), фильтровали и фильтрат выпаривали до оранжево-коричневого масла. Неочищенный материал очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования 0-50% EtOAc в гептане, с получением (6S,8R)-6-(5-бром-3-фторпиридин-2-ил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (0,310 г, 45%) в виде оранжевого твердого вещества.

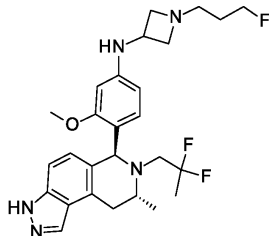
¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃, 27°C) 0,50-0,59 (2H, m), 1,03 (2H, dd), 1,13 (3H, d), 2,72 (1H, dd), 2,91 (1H,

dd), 3,16 (1H, dd), 3,27 (1H, dd), 3,77-3,90 (1H, m), 5,50 (1H, s), 6,80 (1H, d), 7,20 (1H, dd), 7,56 (1H, dd), 8,07 (1H, d), 8,36 (1H, dd);

масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 433$.

Пример 19.

Получение N-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин



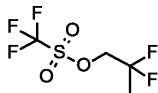
DMF (2 мл) и DIPEA (0,074 мл, 0,42 ммоль) добавляли последовательно в колбу, в которую был загружен N-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)азетидин-3-амин (75 мг, 0,17 ммоль). Затем добавляли 1-фтор-3-йодпропан (31,9 мг, 0,17 ммоль) в DMF (0,1 мл) и перемешивание продолжали в течение 2 ч. Реакцию останавливали, реакционную смесь разбавляли насыщенным водным раствором хлорида натрия и соединение экстрагировали в EtOAc (×3). Объединенные экстракты промывали водой и высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением пленки. Данный материал очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния с элюированием от 2 до 10% (метанола, содержащего 1% гидроксида аммония) в DCM с получением N-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (43 мг, 51%).

1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 , 27°C) 1,00 (3H, d), 1,45-1,70 (5H, m), 2,44 (2H, t), 2,55-2,66 (1H, m), 2,66-2,72 (2H, m), 2,79 (1H, dd), 2,87-3,01 (1H, m), 3,10 (1H, br dd), 3,38-3,53 (1H, m), 3,56-3,67 (2H, m), 3,77 (3H, s), 3,85-3,97 (1H, m), 4,43 (2H, dt), 5,21 (1H, s), 5,88 (1H, dd), 6,00 (1H, d), 6,16 (1H, d), 6,35 (1H, d), 6,64 (1H, d), 7,17 (1H, d), 8,02 (1H, s), 12,92 (1H, d);

масса/заряд: $(ES^+) [M+H]^+ = 502$.

N-(4-((6S,8R)-7-(2,2-Дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)азетидин-3-амин, представляющий собой исходный материал, получали в соответствии с процедурами, представленными ниже.

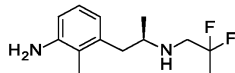
Получение 2,2-дифторпропилтрифторметансульфоната



Ангидрид трифторметансульфоновой кислоты (3,29 мл, 19,5 ммоль) добавляли по каплям к раствору 2,2-дифторпропан-1-ола (1,7 г, 18 ммоль) в DCM (40 мл) при -10°C (баня с солью/льдом). Затем добавляли 2,6-диметилпиридин (2,5 мл, 21 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч при таких условиях. Затем реакционную смесь промывали водой (×2) и органический слой высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении (вакуум ~200 мбар) с получением 2,2-дифторпропилтрифторметансульфоната (2,1 г, 52%) в виде красного масла.

1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ- d , 27°C) 4,48 (2H, t), 1,73 (3H, t).

Получение (R)-3-(2-((2,2-дифторпропил)амино)пропил)-2-метиланилина

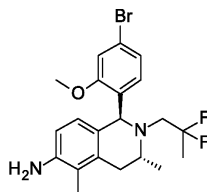


2,2-Дифторпропилтрифторметансульфонат (1,68 г, 7,37 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору (R)-3-(2-аминопропил)-2-метиланилина (1,1 г, 6,7 ммоль) и DIPEA (1,52 мл, 8,71 ммоль) в 1,4-диоксане (20 мл). Реакционную смесь нагревали при 65°C в течение 3 ч перед тем, как ее охлаждали до комнатной температуры и затем концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в EtOAc (30 мл) и промывали с помощью насыщенного водного раствора $NaHCO_3$. Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (20 мл) и объединенные органические слои высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученное красное масло очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 30 до 90% этилацетата в гексанах, с получением (R)-3-(2-((2,2-дифторпропил)амино)пропил)-2-метиланилина (1,02 г, 63%) в виде смолы.

1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6 , 27°C) 0,90 (3H, d), 1,55 (3H, t), 1,75 (1H, br s), 1,97 (3H, s), 2,29-2,38 (1H, m), 2,69-2,76 (2H, m), 2,86 (2H, br t), 4,69 (2H, s), 6,34 (1H, d), 6,47 (1H, d), 6,77 (1H, t);

масса/заряд: $(ES^+) [M+H]^+ = 439$.

Получение (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-2-(2,2-дифторпропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина



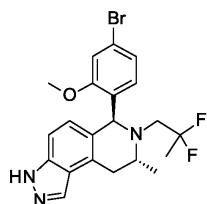
4-Бром-2-метоксибензальдегид (1,07 г, 4,95 ммоль) добавляли к раствору (R)-3-(2-((2,2-дифторпропил)амино)пропил)-2-метиланилина (0,600 г, 2,48 ммоль) в AcOH (12 мл) и воды (0,223 г, 12,4 ммоль) и реакционную смесь нагревали при 80°C в течение 18 ч. После охлаждения летучие вещества концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток растворяли в EtOAc. Раствор нейтрализовали путем промывания насыщенным водным раствором NaHCO₃. Органический слой объединяли с водным раствором HCl (1н.) и двухфазную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем слои разделяли и органический слой промывали водным раствором HCl (1н.). Объединенные водные слои экстрагировали с помощью EtOAc и затем подщелачивали путем добавления твердого K₂CO₃. Затем органический слой экстрагировали с помощью EtOAc (×2) и объединенные органические слои высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 10 до 60% этилацетата в гексанах, с получением (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-2-(2,2-дифторпропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина (0,576 г, 53%) в виде смолы.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 0,95 (3H, d), 1,54 (3H, t), 1,93 (3H, s), 2,27-2,43 (2H, m), 2,57-2,74 (1H, m), 2,76-2,98 (1H, m), 3,19-3,26 (1H, m), 3,84 (3H, s), 4,63 (2H, s), 5,12 (1H, s), 6,26 (1H, d), 6,38 (1H, d), 6,58 (1H, d), 6,94 (1H, dd), 7,16 (1H, d);

масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺ = 439.

Также выделяли N-((1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-2-(2,2-дифторпропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-ил)ацетамид (0,081 г, 7%) в виде смолы.

Получение (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина

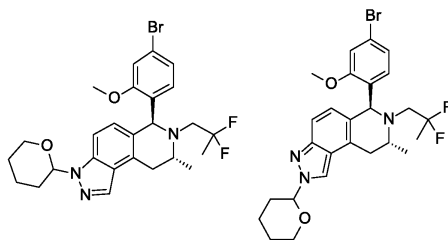


Нитрит натрия (0,049 г, 0,72 ммоль) в виде раствора в воде (0,750 мл) добавляли по каплям к охлажденному раствору (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-2-(2,2-дифторпропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина (0,30 г, 0,68 ммоль) в пропионовой кислоте (2,5 мл) при -15°C и реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч при таких условиях. Добавляли ледяной EtOAc (10 мл) с последующим добавлением порциями насыщенного водного раствора NaHCO₃ (10 мл). Слои разделяли и органический слой промывали насыщенным водным раствором NaHCO₃. Объединенные водные слои экстрагировали с помощью EtOAc и все органические слои объединяли, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 20 до 70% этилацетата в гексанах, с получением (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (0,23 г, 75%) в виде смолы.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 1,01 (3H, d), 1,53 (3H, t), 2,84 (1H, dd), 2,96-3,09 (1H, m), 3,14 (1H, br dd), 3,36-3,48 (1H, m), 3,89 (3H, s), 5,32 (1H, s), 6,64 (2H, кажущийся t), 6,94 (1H, dd), 7,16-7,27 (2H, m), 8,06 (1H, s), 12,99 (1H, br s). 1H перекрыт DMSO.

Масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺ = 450.

Получение (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифторпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина и (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифторпропил)-8-метил-2-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-2H-пиразоло[4,3-f]изохинолина



DCM (7 мл) добавляли в колбу, в которую были загружены (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-ф]изохинолин (0,3 г, 0,67 ммоль) и гидрат 4-метилбензолсульфоновой кислоты (0,025 г, 0,13 ммоль). Добавляли 3,4-дигидро-2Н-пиран (0,084 г, 1,0 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Реакционную смесь промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия и органический слой высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии с элюированием с помощью 5-40% этилацетата в гексанах с получением (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифторпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-ф]изохинолина (175 мг, 49%) в виде смолы.

^1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ- d , 27°C) 0,99-1,13 (3H, br s), 1,48-1,88 (6H, m), 2,01-2,08 (1H, m), 2,08-2,18 (1H, m), 2,48-2,70 (2H, m), 2,82 (1H, dt), 2,88-3,04 (1H, m), 3,20 (1H, br d), 3,55-3,67 (1H, m), 3,63-3,73 (1H, m), 3,88 (3H, s), 3,94-3,98 (1H, m), 5,42 (1H, br s), 5,63 (1H, dt), 6,64 (1H, dd), 6,73 (1H, dd), 6,86 (1H, dd), 7,03 (1H, t), 7,25-7,29 (1H, m), 7,98 (1H, d);

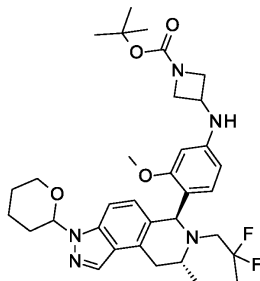
масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 534$.

Также выделяли (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифторпропил)-8-метил-2-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-2Н-пиразоло[4,3-ф]изохинолин (68 мг, 19%) в виде смолы.

^1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ- d , 27°C) 1,02-1,07 (3H, m), 1,42-1,53 (3H, m), 1,59-1,81 (3H, m), 2,03-2,09 (1H, m), 2,18-2,25 (2H, m), 2,59 (1H, qd), 2,69 (1H, dd), 2,86-2,98 (1H, m), 3,02-3,14 (1H, m), 3,46-3,57 (1H, m), 3,72-3,82 (1H, m), 3,87-3,90 (3H, m), 4,11-4,16 (1H, m), 5,31 (1H, s), 5,61-5,68 (1H, m), 6,60 (1H, dd), 6,72 (1H, dd), 6,88 (1H, dt), 7,01-7,05 (1H, m), 7,36 (1H, d), 8,09 (1H, s);

масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 534$.

Получение трет-бутил-3-((4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-ф]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)амино)азетидин-1-карбоксилата

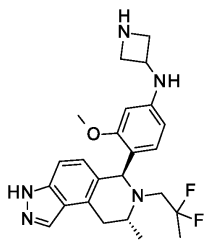


Диоксан (3,5 мл) добавляли в колбу, в которую были загружены CS_2CO_3 (213 мг, 0,65 ммоль), трет-бутил-3-аминоазетидин-1-карбоксилат (85 мг, 0,49 ммоль) и (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифторпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-ф]изохинолин (175 мг, 0,33 ммоль). Из реакционной колбы откачивали воздух и снова заполняли ее азотом ($\times 3$). Добавляли прекализатор 3-го поколения BrettPhos (30 мг, 0,03 ммоль) и из колбы снова откачивали воздух и снова заполняли ее азотом ($\times 3$). Реакционную смесь нагревали при 100°C в течение 4 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученную неочищенную смолу очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния с элюированием с помощью 15-70% этилацетата в гексанах с получением трет-бутил-3-((4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-ф]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)амино)азетидин-1-карбоксилата (152 мг, 74%) в виде пленки.

^1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ- d , 27°C) 1,05 (3H, d), 1,42 (9H, s), 1,44-1,57 (3H, m), 1,57-1,63 (1H, m), 1,66-1,77 (2H, m), 2,04-2,08 (1H, m), 2,09-2,18 (1H, m), 2,47-2,69 (2H, m), 2,79 (1H, dt), 2,84-2,99 (1H, m), 3,16 (1H, br dd), 3,48-3,61 (1H, m), 3,69 (3H, dt), 3,83 (3H, s), 3,94-4,04 (2H, m), 4,15 (1H, br s), 4,20-4,29 (2H, m), 5,32 (1H, s), 5,63 (1H, dt), 5,86 (1H, dd), 6,07 (1H, t), 6,55 (1H, dd), 6,78 (1H, dd), 7,20-7,23 (1H, m), 7,98 (1H, d);

масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 626$.

Получение N-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-ф]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)азетидин-3-амин



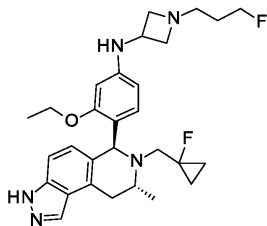
Метанол (1 мл) и затем HCl в диоксане (4 М; 1 мл, 4 ммоль) последовательно добавляли в колбу, в которую был загружен трет-бутил-3-((4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)амино)азетидин-1-карбоксилат (140 мг, 0,22 ммоль). Через 2 ч реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток очищали с применением картриджа SCX-2, который предварительно обрабатывали метанолом. Соединение элюировали сначала метанолом, а затем аммиаком в метаноле (3н.). Фракции с продуктом концентрировали при пониженном давлении с получением N-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-азетидин-3-амин (91 мг, 92%) в виде смолы. Продукт применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 , 27°C) 1,00 (3H, d), 1,52 (3H, t), 2,55-2,59 (1H, m), 2,78 (1H, dd), 2,85-2,99 (1H, m), 3,09 (1H, dd), 3,39-3,50 (1H, m), 3,55-3,66 (2H, m), 3,77 (3H, s), 4,03-4,14 (1H, m), 5,21 (1H, s), 5,85 (1H, dd), 6,05 (1H, br d), 6,14 (1H, d), 6,34 (1H, d), 6,63 (1H, d), 7,17 (1H, d), 8,02 (1H, s), 12,93 (1H, br s). 3H не наблюдали,

масса/заряд: (ES $^+$) [M+H] $^+$ = 442.

Пример 20.

Получение N-(3-этокси-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин



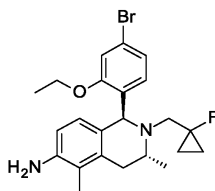
DMF (2 мл) и DIPEA (0,050 мл, 0,28 ммоль) последовательно добавляли в колбу, в которую был загружен N-(3-этокси-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)азетидин-3-амин (0,051 г, 0,11 ммоль). 1-Фтор-3-йодпропан (0,021 г, 0,11 ммоль) добавляли в виде раствора в DMF (0,2 мл) и через 2 ч реакционную смесь разбавляли насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Смесь экстрагировали с помощью этилацетата (x3) и объединенные органические слои промывали водой, высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 2 до 10% (метанола, содержащего 1% гидроксида аммония) в DCM. Фракции с продуктом объединяли, концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния с применением вышеуказанных условий с получением N-(3-этокси-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)-метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)-азетидин-3-амин (0,023 г, 40%).

^1H ЯМР (ХЛОРОФОРМ- d , 27°C) 0,50 (2H, br d), 0,88-1,05 (2H, m), 1,12 (3H, br d), 1,45 (3H, t), 1,75-1,87 (2H, m), 2,59-2,73 (3H, m), 2,87-3,04 (3H, m), 3,04-3,15 (1H, m), 3,41 (1H, br dd), 3,73-3,90 (3H, m), 3,93-4,18 (4H, m), 4,52 (2H, dt), 5,37 (1H, br s), 5,99 (1H, dd), 6,13 (1H, br d), 6,80-6,89 (2H, m), 7,14 (1H, d), 8,06-8,08 (1H, m), 10,02 (1H, br s);

масса/заряд: (ES $^+$) [M+H] $^+$ = 510.

Процедуры, применяемые для получения N-(3-этокси-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)азетидин-3-амин, описаны ниже.

Получение (1S,3R)-1-(4-бром-2-этоксифенил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин

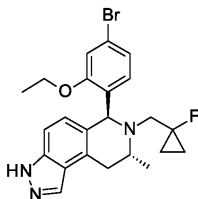


4-Бром-2-этоксibenзальдегид (0,775 г, 3,39 ммоль) добавляли к раствору (R)-3-2-(((1-фторциклопропил)метил)амино)пропил)-2-метиланилина (0,400 г, 1,69 ммоль) в AcOH (9 мл) и воде (0,152 г, 8,46 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 80°C в течение 18 ч. После охлаждения реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и затем остаток растворяли в EtOAc и промывали с помощью насыщенного водного раствора NaHCO₃. Слои разделяли и органическую фазу объединяли с водным раствором хлористоводородной кислоты (1н.). После перемешивания двухфазной смеси в течение 30 мин слои разделяли. Органический слой промывали водным раствором HCl (1н.) и объединенные водный слои экстрагировали с помощью EtOAc (×2). Объединенные водные слои затем подщелачивали путем добавления твердого K₂CO₃ и экстрагировали с помощью EtOAc (×2). Органические экстракты объединяли, высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 10 до 60% этилацетата в гексанах, с получением (1S,3R)-1-(4-бром-2-этоксифенил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (0,48 г, 63%) в виде твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 0,40-0,59 (2H, m), 0,83-0,93 (2H, m), 0,94 (3H, d), 1,35 (3H, t), 1,93-1,96 (3H, m), 2,45-2,53 (2H, m), 2,80-2,93 (2H, m), 3,57 (1H, br d), 4,14 (2H, q), 4,58 (2H, s), 5,15 (1H, s), 6,26 (1H, d), 6,35 (1H, d), 6,86 (1H, d), 6,95 (1H, dd), 7,15 (1H, d);

масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺ = 447.

Получение (6S,8R)-6-(4-бром-2-этоксифенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина

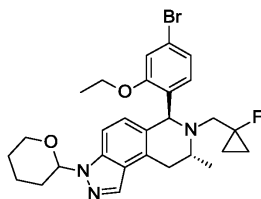


Нитрит натрия (0,039 г, 0,56 ммоль) в виде раствора в воде (0,750 мл) добавляли по каплям к охлажденному раствору (1S,3R)-1-(4-бром-2-этоксифенил)-2-((1-фторциклопропил)метил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (0,240 г, 0,54 ммоль) в пропионовой кислоте (3,0 мл) при -15°C и реакционную смесь поддерживали при таких условиях в течение 1 ч. Затем добавляли ледяной EtOAc (10 мл) с последующим добавлением порциями насыщенного водного раствора NaHCO₃ (15 мл). Как только завершали добавление и выделение газа прекращалось, слои разделяли. Органический слой промывали насыщенным водным раствором NaHCO₃ (×2) и объединенные водные слои экстрагировали с помощью EtOAc (×2). Объединенные органические слои высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии, градиент элюирования от 20 до 60% этилацетата в гексанах, с получением (6S,8R)-6-(4-бром-2-этоксифенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (0,145 г, 59%) в виде смолы.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 0,45 (1H, br s), 0,57 (1H, br s), 0,83-0,98 (2H, m), 1,00 (3H, d), 1,37 (3H, t), 2,54-2,63 (1H, m), 2,87-3,00 (2H, m), 3,27-3,32 (1H, m), 3,74 (1H, br d), 4,13-4,23 (2H, m), 5,32 (1H, s), 6,67 (1H, d), 6,94 (1H, s), 6,96-6,99 (1H, m), 7,19 (1H, d), 7,22 (1H, d), 8,06 (1H, s), 12,96 (1H, s);

масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺ = 458.

Получение (6S,8R)-6-(4-бром-2-этоксифенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина



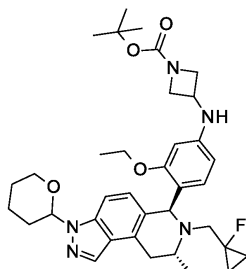
DCM (3 мл) и 3,4-дигидро-2H-пиран (35,8 мг, 0,43 ммоль) добавляли в колбу, в которую были загружены (6S,8R)-6-(4-бром-2-этоксифенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин (130 мг, 0,28 ммоль) и гидрат 4-метилбензолсульфоновой кислоты

(10,79 мг, 0,06 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Реакционную смесь промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия и органический слой высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученную коричневую смолу очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 5 до 40% этилацетата в гексанах, с получением (6S,8R)-6-(4-бром-2-этоксифенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (147 мг, 96%) в виде сухой пленки.

^1H ЯМР (500 МГц, ХЛОРОФОРМ- d , 27°C) 0,42-0,51 (2H, m), 0,94-1,03 (2H, m), 1,07-1,12 (3H, m), 1,49 (3H, t), 1,61-1,68 (1H, m), 1,73-1,79 (2H, m), 2,02-2,10 (1H, m), 2,12-2,20 (1H, m), 2,53-2,63 (2H, m), 2,93 (1H, dt), 3,10 (1H, ddd), 3,38-3,46 (1H, m), 3,65-3,77 (1H, m), 3,83-3,92 (1H, m), 4,00-4,07 (1H, m), 4,12-4,19 (2H, m), 5,43 (1H, s), 5,66 (1H, ddd), 6,81 (1H, d), 6,89-6,93 (1H, m), 6,95-7,00 (1H, m), 7,03-7,06 (1H, m), 7,25 (1H, dd), 8,03 (1H, s);

масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 542$.

Получение трет-бутил-3-((3-этокси-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)амино)-азетидин-1-карбоксилата

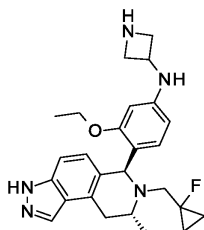


Диоксан (2,7 мл) добавляли в колбу, в которую были загружены (6S,8R)-6-(4-бром-2-этоксифенил)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин (140 мг, 0,26 ммоль), Cs_2CO_3 (168 мг, 0,52 ммоль) и трет-бутил-3-аминоазетидин-1-карбоксилат (67 мг, 0,39 ммоль). Из реакционной колбы откачивали воздух и заполняли ее N_2 ($\times 3$). Добавляли прекатализатор 3-го поколения BrettPhos (23 мг, 0,030 ммоль) и из колбы откачивали воздух и заполняли ее азотом ($\times 3$). Реакционную смесь нагревали при 90°C в течение 1 ч и затем при 90°C в течение 44 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученную смолу очищали посредством флэш-хроматографии, градиент элюирования от 30 до 100% этилацетата в гексанах, с получением трет-бутил-3-((3-этокси-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)амино)азетидин-1-карбоксилата (86 мг, 53%) в виде смолы.

^1H ЯМР (500 МГц, ХЛОРОФОРМ- d , 27°C) 0,39-0,49 (2H, m), 0,87-0,95 (2H, m), 1,06 (3H, d), 1,38-1,45 (12H, m), 1,57-1,62 (1H, m), 1,68-1,74 (2H, m), 1,98-2,06 (1H, m), 2,07-2,15 (1H, m), 2,49-2,63 (2H, m), 2,85 (1H, dt), 3,05 (1H, br t), 3,29-3,35 (1H, m), 3,63-3,73 (3H, m), 3,75-3,83 (1H, m), 3,92 (1H, br d), 3,99 (1H, br d), 4,05 (2H, q), 4,14 (1H, br dd), 4,18-4,26 (2H, m), 5,33 (1H, s), 5,58-5,63 (1H, m), 5,90 (1H, br d), 6,02-6,06 (1H, m), 6,76 (1H, dd), 6,80 (1H, d), 7,19 (1H, d), 7,97 (1H, s);

масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 634$.

Получение N-(3-этокси-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)азетидин-3-амин



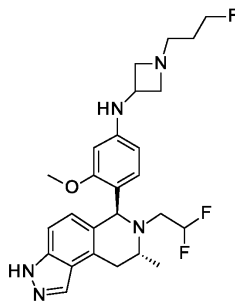
Метанол (0,5 мл) добавляли в колбу, в которую был загружен трет-бутил-3-((3-этокси-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)амино)азетидин-1-карбоксилат (0,080 г, 0,13 ммоль). Добавляли хлористоводородную кислоту в диоксане (4 М; 0,5 мл, 2 ммоль) и перемешивание продолжали в течение 2 ч. Затем реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток очищали с применением картриджа SCX-2, который предварительно обрабатывали метанолом, с элюированием сначала метанолом и затем раствором аммиака в метаноле (3н.) с получением N-(3-этокси-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)азетидин-3-амин (0,057 г, 99%) в виде твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, ХЛОРОФОРМ- d , 27°C) 0,44-0,55 (2H, m), 0,90-1,00 (2H, m), 1,12 (3H, d), 1,45 (3H, t), 2,61-2,71 (1H, m), 2,92 (1H, br dd), 3,10 (1H, br dd), 3,40 (1H, br dd), 3,51-3,58 (2H, m), 3,83-3,90 (1H, m), 3,91-4,02 (2H, m), 4,03-4,16 (3H, m), 4,36 (1H, sxt), 5,38 (1H, s), 5,98 (1H, dd), 6,12 (1H, br d), 6,77-6,89 (2H, m), 7,13 (1H, d), 8,07 (1H, s), 10,09 (1H, br s). Один H не наблюдали, и, по-видимому, он перекрыт пиком воды,

масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 450$.

Пример 21.

Получение N-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин



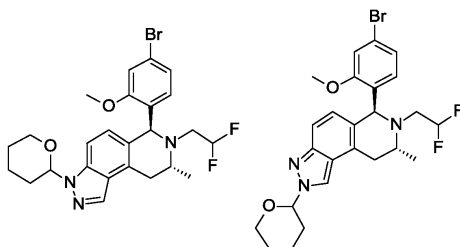
Хлористоводородную кислоту в диоксане (4 М; 1,23 мл, 5,2 ммоль) добавляли по каплям к перемешиваемому раствору трет-бутил-3-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-2-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-2H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифениламино)азетидин-1-карбоксилата (316 мг, 0,52 ммоль) в MeOH (5 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток растворяли в MeOH. Добавляли избыток макропористой смолы карбоната тетраалкиламмония (Aldrich; 18-50 меш; загрузка 2,5-3,5 ммоль/г N) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 мин. Смесь фильтровали и фильтрат высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного N-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)азетидин-3-амин в виде смолы (220 мг). Данный материал непосредственно применяли на следующей стадии без дополнительной очистки, масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 428$. Смесь N-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)азетидин-3-амин (220 мг, 0,51 ммоль), 1-фтор-3-йодпропана (106 мг, 0,57 ммоль) и DIPEA (0,270 мл, 1,54 ммоль) в DMF (5 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM и промывали с помощью насыщенного водного раствора хлорида аммония. Водный слой экстрагировали с помощью DCM и объединенные органические слои высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством препаративной HPLC (колонка Xbridge C18, 19×150 мм; 5 мкм; скорость потока: 20 мл/мин.), элюирование с помощью 40-80% ацетонитрила в воде, содержащей 0,2% гидроксида аммония. Фракции с продуктом концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток очищали посредством препаративной SFC (колонка с 2-этилпиридином, 19×150 мм, 5 мкм; скорость потока: 75 мл/мин.; температура колонки: 40°C; давление на выходе: 100 бар) с элюированием с помощью 15% метанола, содержащего 0,2% гидроксида аммония в диоксиде углерода, с получением N-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (82 мг, 33% за две стадии) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO- d_6 , 27°C) 1,03 (3H, d), 1,55-1,74 (2H, m), 2,41-2,47 (2H, m), 2,53-2,83 (4H, m), 2,86-3,04 (1H, m), 3,10 (1H, br dd), 3,32-3,43 (1H, m), 3,58-3,66 (2H, m), 3,82 (3H, s), 3,86-3,98 (1H, m), 4,45 (2H, dt), 5,21 (1H, s), 5,89 (1H, t), 5,90 (1H, dd), 6,01 (1H, d), 6,19 (1H, d), 6,35 (1H, d), 6,67 (1H, d), 7,19 (1H, d), 8,03 (1H, s), 12,92-12,96 (1H, m);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 488$.

трет-Бутил-3-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-2-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)амино)азетидин-1-карбоксилат, представляющий собой исходный материал, получали в соответствии со следующими процедурами.

Получение (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина и (6S,8R)-6-й-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-2-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-2H-пиразоло[4,3-f]изохинолина



Во флакон для микроволновой обработки загружали (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-ф]изохинолин (986 мг, 2,26 ммоль), гидрат 4-метилбензолсульфоновой кислоты (43 мг, 0,23 ммоль), 3,4-дигидро-2Н-пиран (0,31 мл, 3,4 ммоль) и DCM. Реакционную смесь нагревали при 80°C при условиях воздействия микроволнового излучения (300 Вт) в течение 20 мин. Затем реакционную смесь охлаждали и разбавляли с помощью DCM перед промыванием с помощью насыщенного водного раствора гидрокарбоната натрия. Слои разделяли и органический слой высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 70% EtOAc в гексанах, с получением более быстро элюируемого (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-ф]изохинолина (457 мг, 39%) в виде оранжевого твердого вещества.

¹H ЯМР (300 МГц, ХЛОРОФОРМ-d, 27°C) 1,04-1,22 (3H, m), 1,59-1,86 (3H, m), 2,04-2,23 (2H, m), 2,53-3,31 (5H, m), 3,40-3,57 (1H, m), 3,68-3,79 (1H, m), 3,97 (3H, s), 4,00-4,09 (1H, m), 5,41 (1H, br s), 5,69 (1H, br s), 5,66-5,73 (1H, m), 6,67 (1H, dd), 6,80 (1H, dd), 6,92 (1H, dd), 7,06-7,12 (1H, m), 7,29-7,37 (1H, m), 8,03 (1H, s);

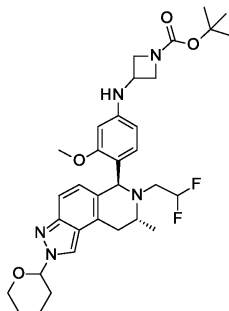
масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 612.

Также выделяли более медленно элюируемый (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-2-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-2Н-пиразоло[4,3-ф]изохинолин (627 мг, 57%) в виде бежевого порошка.

¹H ЯМР (300 МГц, ХЛОРОФОРМ-d, 27°C) 1,12 (3H, br d), 1,64-1,87 (3H, m), 2,03-2,17 (1H, m), 2,18-2,29 (2H, m), 2,61-2,83 (2H, m), 2,89-3,15 (2H, m), 3,43 (1H, br s), 3,75-3,86 (1H, m), 3,95 (3H, s), 4,13-4,20 (1H, m), 5,32 (1H, s), 5,79 (1H, br t), 5,66-5,73 (1H, m), 6,63-6,77 (2H, m), 6,93 (1H, d), 7,09 (1H, d), 7,43 (1H, d), 8,14 (1H, s);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 612.

Получение трет-бутил-3-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-2-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-2Н-пиразоло[4,3-ф]изохинолин-6-ил)-3-метоксифениламино)азетидин-1-карбоксилата



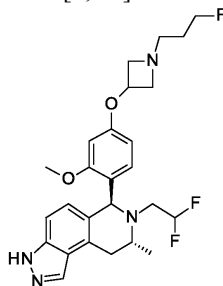
Во флакон для микроволновой обработки загружали (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-2-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-2Н-пиразоло[4,3-ф]изохинолин (310 мг, 0,60 ммоль), трет-бутил-3-аминоазетидин-1-карбоксилат (154 мг, 0,89 ммоль), CS₂CO₃ (388 мг, 1,19 ммоль) и катализатор 3-го поколения BrettPhos (54,0 мг, 0,06 ммоль). Флакон дегазировали и заполняли азотом (×2). Флакон снова дегазировали и повторно заполняли 1,4-диоксаном (6 мл) и азотом. Флакон снова дегазировали и повторно заполняли азотом. Смесь нагревали при условиях воздействия микроволнового излучения (300 Вт, 110°C) в течение 3,5 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM и промывали с помощью насыщенного водного раствора гидрокарбоната натрия. Органический слой высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 20 до 60% EtOAc в гексанах, с получением трет-бутил-3-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-2-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-2Н-пиразоло[4,3-ф]изохинолин-6-ил)-3-метоксифениламино)азетидин-1-карбоксилата (322 мг, 88%) в виде грязно-белого твердого вещества.

¹H ЯМР (300 МГц, ХЛОРОФОРМ-d, 27°C) 1,08 (3H, br d), 1,39-1,43 (9H, m), 1,58-1,81 (3H, m), 2,06 (1H, br dd), 2,13-2,25 (2H, m), 2,58-2,71 (1H, m), 2,82-3,11 (2H, m), 3,34-3,50 (1H, m), 3,66-3,81 (3H, m), 3,86 (3H, s), 3,90-4,01 (1H, m), 4,08-4,20 (3H, m), 4,19-4,29 (2H, m), 5,22 (1H, s), 5,76 (1H, t), 5,64 (1H, t), 5,88 (1H, br d), 6,09 (1H, d), 6,59 (1H, br t), 6,67 (1H, d), 7,37 (1H, br d), 8,08 (1H, s);

масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 612$.

Пример 22.

Получение (6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-6-(4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)-2-метоксифенил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина



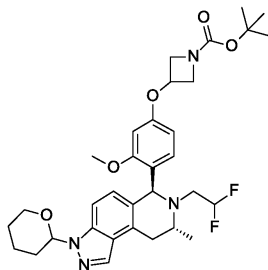
HCl в диоксане (4 M; 1,02 мл, 4,08 ммоль) добавляли по каплям к перемешиваемому раствору трет-бутил-3-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифеноксид)азетидин-1-карбоксилата (250 мг, 0,41 ммоль) в MeOH (4 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Затем реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток растворяли с помощью MeOH. Добавляли избыток макропористой смолы карбоната тетраалкиламмония (Aldrich; 18-50 меш; загрузка 2,5-3,5 ммоль/г N) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 мин перед тем, как их высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного (6S,8R)-6-(4-(азетидин-3-илокси)-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (179 мг), который непосредственно применяли на следующей стадии без дополнительной очистки, масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 429$. Смесь (6S,8R)-6-(4-(азетидин-3-илокси)-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (178 мг, 0,42 ммоль), 1-фтор-3-йодпропана (94 мг, 0,50 ммоль) и DIPEA (0,218 мл, 1,25 ммоль) в DMF (4 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Затем реакционную смесь разбавляли с помощью DCM и промывали с помощью насыщенного водного раствора хлорида аммония. Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические слои высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством препаративной SFC (колонка с 2-этилпиридином; 19 мм × 150 мм; 5 мкм; скорость потока: 75 мл/мин.; температура колонки: 40°C; давление на выходе: 100 бар) с элюированием с помощью 15% (метанола, содержащего 0,2% гидроксида аммония) в диоксиде углерода с получением (6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-6-(4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)-2-метоксифенил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (70 мг, 35% за две стадии) в виде белого твердого вещества.

1H ЯМР (300 МГц, DMSO- d_6 , 27°C) 1,02 (3H, d), 1,61-1,84 (2H, m), 2,55-2,84 (3H, m), 2,90-3,13 (2H, m), 3,18-3,43 (4H, m), 3,87 (3H, s), 3,89-4,00 (2H, m), 4,45 (2H, dt), 4,81 (1H, quin), 5,28 (1H, s), 5,74-6,16 (1H, m), 6,19 (1H, dd), 6,49-6,54 (2H, m), 6,66 (1H, d), 7,21 (1H, d), 8,04 (1H, s), 12,98 (1H, s);

масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 489$.

Процедуры, применяемые для получения трет-бутил-3-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифеноксид)азетидин-1-карбоксилата, представляющего собой исходный материал, описаны ниже.

Получение трет-бутил-3-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифеноксид)азетидин-1-карбоксилата



Во флакон для микроволновой обработки загружали (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин (259 мг, 0,50 ммоль), трет-бутил-3-гидроксизазетидин-1-карбоксилат (259 мг, 1,49 ммоль), карбонат цезия (324 мг, 1,00 ммоль) и прекатализатор 3-го поколения RockPhos (42 мг, 0,050 ммоль). Из флакона откачивали воздух и заполняли азотом (×2). Затем из флакона откачивали воздух и заполняли толуолом (3 мл). Из флакона откачивали воздух и заполняли азотом. Смесь нагревали при 110°C в течение 4 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM и промывали с помощью насыщенного водного раствора гидро-

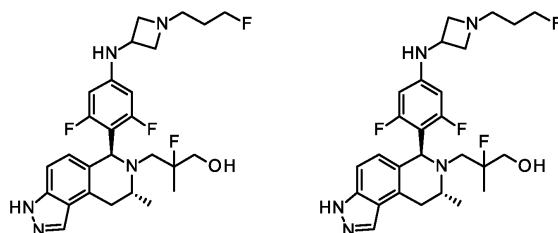
карбоната натрия. Органический слой высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 60% EtOAc в гексанах с получением трет-бутил-3-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенокси)азетидин-1-карбоксилата (220 мг, 72%) в виде твердого вещества, представляющего собой белую пену.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 , 100°C) 1,03-1,09 (3H, m), 1,40 (9H, s), 1,56-1,64 (2H, m), 1,67-1,84 (1H, m), 1,93-2,01 (1H, m), 2,02-2,12 (1H, m), 2,34-2,46 (1H, m), 2,59-2,74 (1H, m), 2,84 (1H, dt), 2,93-3,06 (1H, m), 3,13-3,23 (1H, m), 3,40-3,50 (1H, m), 3,65-3,74 (1H, m), 3,76-3,84 (2H, m), 3,84-3,91 (4H, m), 4,21-4,28 (2H, m), 4,97 (1H, tt), 5,33 (1H, s), 5,67-6,00 (1H, m), 5,74 (1H, dd), 6,23 (1H, ddd), 6,54 (1H, d), 6,66 (1H, t), 6,73 (1H, d), 7,35 (1H, d), 8,04 (1H, s);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 613$.

Примеры 23 и 24.

Получение отдельных диастереоизомеров 3-((6S,8R)-6-(2,6-дифтор-4-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-иламино)фенил)-8-метил-8,9-дигидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7(6H)-ил)-2-фтор-2-метилпропан-1-ола



Фторид тетрабутиламмония в THF (1 М; 0,114 мл, 0,11 ммоль) добавляли по каплям с помощью шприца к перемешиваемому раствору N-(4-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (82 мг, 0,08 ммоль) в THF (0,75 мл). Через 2,5 ч добавляли дополнительное количество фторида тетрабутиламмония в THF (1 М; 0,08 мл, 0,08 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение дополнительных 18 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM и промывали последовательно насыщенным водным раствором NaHCO_3 и насыщенным водным раствором хлорида натрия, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния с градиентом элюирования 0,5-10% MeOH в DCM. Фракции с продуктом концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток дополнительно очищали посредством препаративной HPLC (колонок Waters XBridge Prep C18 OBD, 5 мкм диоксид кремния, 19 мм в диаметре, 150 мм в длину) с применением градиента элюирования от 45 до 85% ацетонитрила в (воде, содержащей 0,2% NH_4OH). Фракции с продуктом концентрировали при пониженном давлении с получением первого элюируемого изомера 1 (2,7 мг, 7%) и второго элюируемого изомера (2,1 мг, 5%) 3-((6S,8R)-6-(2,6-дифтор-4-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-иламино)фенил)-8-метил-8,9-дигидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7(6H)-ил)-2-фтор-2-метилпропан-1-ола в виде бледно-желтых пленок.

Изомер 1: ^1H ЯМР (500 МГц, CD_2Cl_2 , 27°C) 1,13 (3H, d), 1,17 (3H, d), 1,66-1,78 (3H, m), 2,54 (2H, t), 2,69 (1H, dd), 2,81-2,94 (3H, m), 3,00 (1H, dd), 3,31 (1H, dd), 3,51-3,59 (1H, m), 3,60-3,71 (4H, m), 3,95-4,03 (1H, m), 4,38 (1H, br s), 4,46 (2H, dt), 5,26 (1H, s), 6,01 (2H, br d), 6,84 (1H, d), 7,21 (1H, d), 8,03 (1H, s), 10,19 (1H, br s);

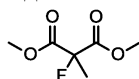
масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 520$.

Изомер 2: ^1H ЯМР (500 МГц, CD_2Cl_2 , 27°C) 1,05 (3H, d), 1,09 (3H, d), 1,65-1,80 (2H, m), 2,54 (2H, t), 2,62 (1H, dd), 2,83-2,88 (2H, m), 2,91-3,00 (1H, m), 3,13-3,24 (1H, m), 3,33-3,46 (2H, m), 3,48-3,58 (1H, m), 3,66 (2H, q), 3,96-4,04 (2H, m), 4,40 (1H, dt), 4,41-4,53 (2H, m), 4,64 (1H, br d), 5,03 (1H, s), 6,06 (2H, br d), 6,76 (1H, d), 7,19 (1H, d), 8,03 (1H, s), 10,19 (1H, br s);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 520$.

Процедуры, применяемые для получения N-(4-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин, представляющего собой исходный материал, описаны ниже.

Получение диметил-2-фтор-2-метилпропандиоата

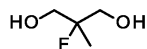


Гидрид натрия (60% дисперсия в минеральном масле; 2,93 г, 73,3 ммоль) добавляли к раствору диметил-2-фтормалоната (10,0 г, 66,6 ммоль) в THF (218 мл) при интенсивном перемешивании. Через 30 мин добавляли йодметан (4,56 мл, 73,3 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение дополнительных 3 ч. Реакционную смесь гасили водой и затем экстрагировали с помощью EtOAc (4×100 мл).

Объединенные органические слои высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением диметил-2-фтор-2-метилпропандиоата (8,4 г, 77%) в виде оранжевого масла.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6 , 27°C) 1,72 (3H, d), 3,77 (6H, s).

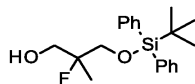
Получение 2-фтор-2-метилпропан-1,3-диола



Алюмогидрид лития (4,50 г, 112,6 ммоль) добавляли порциями к перемешиваемому раствору диметил-2-фтор-2-метилпропандиоата (8,40 г, 51,2 ммоль) в THF (205 мл) при 0°C. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали при таких условиях в течение 1 ч. Затем реакционную смесь охлаждали до 0°C и осторожно гасили с помощью последовательного добавления по каплям воды (5,85 мл), водного раствора, содержащего 15 вес.% NaOH (5,85 мл), и воды (18 мл). Полученную гелеобразную суспензию быстро перемешивали в течение 1 ч. Осадок удаляли посредством фильтрации и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в смеси CHCl_3/IPA (3:1), высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением 2-фтор-2-метилпропан-1,3-диола (3,28 г, 46%) в виде оранжевого масла. Данное масло применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6 , 27°C) 1,18 (3H, d), 3,42 (4H, dd), 4,80 (2H, t).

Получение 3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропан-1-ола

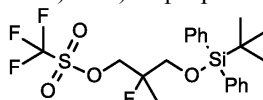


Гидрид натрия (60% дисперсия в минеральном масле; 1,1 г, 27,5 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору 2-фтор-2-метилпропан-1,3-диола (2,7 г, 25 ммоль) в THF (93 мл) при 0°C и реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч. Добавляли трет-бутилхлордифенилсилан (6,5 мл, 25 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение дополнительного 1 ч. Реакционную смесь гасили водой, слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (2×100 мл). Объединенные органические слои высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и адсорбировали на силикагеле при пониженном давлении. С помощью очистки посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 50% EtOAc в гексанах, получали 3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропан-1-ол (4,4 г, 51%) в виде прозрачной смолы.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6 , 27°C) 1,00 (9H, s), 1,27 (3H, d), 3,48 (1H, dd), 3,53 (1H, dd), 3,66 (1H, d), 3,73 (1H, br s), 4,93 (1H, t), 7,40-7,48 (6H, m), 7,59-7,66 (4H, m);

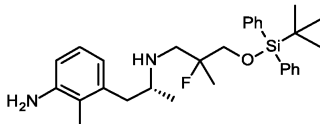
масса/заряд: ES^+ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 347.

Получение 3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропилтрифторметансульфоната



Ангидрид трифторметансульфоновой кислоты (1,3 мл, 7,6 ммоль) добавляли по каплям к перемешиваемому раствору 3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропан-1-ола (2,2 г, 6,35 ммоль) и 2,6-диметилпиридина (1,28 мл, 7,6 ммоль) в DCM (22 мл) при -10°C (баня с солью/льдом). Реакционную смесь поддерживали при таких условиях в течение 1,5 ч. Затем реакционную смесь разбавляли с помощью DCM (100 мл) и промывали последовательно водным раствором HCl (1н.), насыщенным водным раствором NaHCO_3 и насыщенным водным раствором NaCl. Органический слой высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением 3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропилтрифторметансульфоната (3,2 г) в виде красного масла. Данное масло применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Получение диастереоизомерной смеси 3-((2R)-2-((3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)амино)пропил)-2-метиланилина



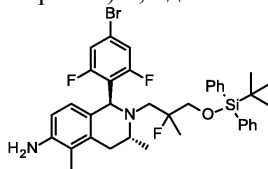
3-((трет-Бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропилтрифторметансульфонат (3,04 г, 6,35 ммоль) добавляли к раствору (R)-3-(2-аминопропил)-2-метиланилина (1,04 г, 6,35 ммоль) и диизопропилэтиламина (1,65 мл, 9,53 ммоль) в 1,4-диоксане (24 мл). Реакционную смесь нагревали при 85°C в течение 18 ч. После охлаждения реакционную смесь разбавляли с помощью DCM (250 мл) и промывали водой. Водный слой экстрагировали с помощью DCM (2×100 мл) и объединенные органические вещества высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до

25% MeOH в DCM. Фракции с продуктом концентрировали при пониженном давлении с получением 3-((2R)-2-((3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)амино)пропил)-2-метиланилина (2,10 г, 95%) в виде смолы.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO- d_6 , 27°C) 0,90 (3H, dd), 1,01 (9H, d), 1,29 (3H, dd), 1,41 (1H, br s), 1,97 (3H, d), 2,29-2,43 (1H, m), 2,65-2,91 (4H, m), 3,62-3,82 (2H, m), 4,67 (2H, s), 6,28-6,36 (1H, m), 6,47 (1H, dd), 6,69-6,81 (1H, m), 7,40-7,52 (6H, m), 7,61-7,69 (4H, m);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 494$.

Получение диастереоизомерной смеси (1S,3R)-1-(4-бром-2,6-дифторфенил)-2-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина

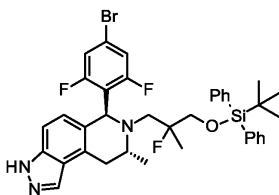


4-Бром-2,6-дифторбензальдегид (628 мг, 2,84 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору 3-((2R)-2-((3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)амино)пропил)-2-метиланилина (700 мг, 1,42 ммоль) и воды (0,128 мл, 7,10 ммоль) в смеси уксусной кислоты (10 мл) и толуола (4 мл). Реакционную смесь нагревали при 90°C в течение 18 ч перед нагреванием с обратным холодильником в течение еще 4 ч. Обеспечивали охлаждение реакционной смеси и ее концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в DCM и промывали с помощью насыщенного водного раствора NaHCO_3 . Водную фазу экстрагировали с помощью DCM (20 мл) и объединенные органические слои концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в смеси MeOH/DCM (5:1, 18 мл) и затем добавляли гидрохлорид гидроксилана (148 мг, 2,13 ммоль) и ацетат натрия (233 мг, 2,84 ммоль). Смесь перемешивали при 35°C в течение 5 мин и затем концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в EtOAc и последовательно промывали насыщенным водным раствором NaHCO_3 и насыщенным водным раствором NaCl перед тем, как их высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 35% EtOAc в гексанах, с получением (1S,3R)-1-(4-бром-2,6-дифторфенил)-2-(3-((трет-бутил дифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина (339 мг, 34%) в виде бледно-желтой пленки.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,05 (9H, d), 1,19 (3H, dd), 2,08 (3H, s), 2,35 (1H, dd), 2,47-2,67 (2H, m), 2,84-3,01 (1H, m), 3,02-3,14 (1H, m), 3,22 (1H, dd), 3,40-3,63 (3H, m), 3,66-3,79 (1H, m), 3,92 (1H, dd), 5,15 (1H, d), 6,38-6,47 (2H, m), 6,83 (1H, d), 6,93-7,00 (1H, m), 7,38-7,49 (6H, m), 7,59-7,71 (4H, m), 8,69 (1H, s);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ 695$.

Получение диастереоизомерной смеси (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина

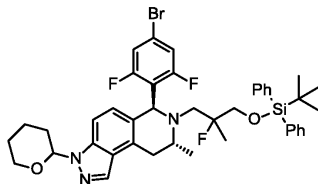


Нитрит натрия (33,6 мг, 0,49 ммоль) в виде раствора в воде (0,400 мл) добавляли по каплям к охлажденному раствору (1S,3R)-1-(4-бром-2,6-дифторфенил)-2-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина (339 мг, 0,49 ммоль) в пропионовой кислоте (4 мл) при -20°C и реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при таких условиях. Добавляли ледяной EtOAc (20 мл) с последующим добавлением порциями насыщенного водного раствора NaHCO_3 (5 мл). Двухфазную смесь энергично перемешивали и нейтрализовали путем медленного добавления твердого Na_2CO_3 . Фазы разделяли и органические слои промывали насыщенным водным раствором NaHCO_3 (2x30 мл) и насыщенным водным раствором NaCl (30 мл) перед тем, как их высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 40% EtOAc в гексанах, с получением (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (206 мг, 60%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 0,98 (4,5H, s), 1,00 (1,5H, d), 1,02 (1,5H, d), 1,04 (4,5H, s), 1,15 (1,5H, d), 1,23 (1,5H, d), 2,30-2,47 (0,5H, m), 2,60 (0,5H, dd), 2,81 (0,5H, dd), 2,89 (0,5H, dd), 3,02 (0,5H, dd), 3,06-3,21 (1H, m), 3,22-3,33 (0,5H, m), 3,37-3,51 (1H, m), 3,51-3,60 (0,5H, m), 3,61-3,72 (0,5H, m), 3,73-3,83

(0,5H, m), 3,89 (0,5H, dd), 5,22 (0,5H, s), 5,27 (0,5H, s), 6,70 (1H, dd), 6,81 (1H, br d), 6,91-7,00 (1H, m), 7,14 (1H, t), 7,33-7,47 (6H, m), 7,55-7,67 (4H, m), 8,07 (1H, br d). NH индазола не наблюдали, масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 706$.

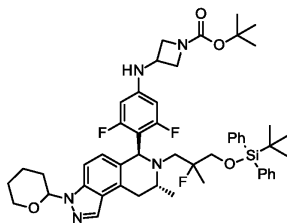
Получение диастереоизомерной смеси (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолина



3,4-Дигидро-2Н-пиран (0,129 мл, 1,41 ммоль) и моногидрат пара-толуолсульфоновой кислоты (2,7 мг, 0,01 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолина (200 мг, 0,28 ммоль) в DCM (2 мл). Реакционную смесь нагревали при 45°C в течение 21 ч. Обеспечивали охлаждение реакционной смеси и затем ее разбавляли с помощью DCM, промывали с помощью насыщенного водного раствора $NaHCO_3$, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 5 до 30% $EtOAc$ в гексанах, с получением (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолина (176 мг, 79%) в виде бесцветной пленки.

Масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 790$.

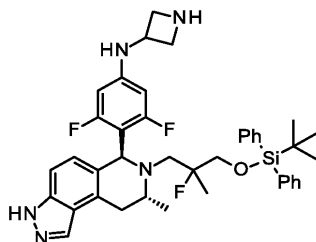
Получение диастереоизомерной смеси трет-бутил-3-((4-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)амино)азетидин-1-карбоксилата



Во флакон загружали магнитный якорь, (6S,8R)-6-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин (126 мг, 0,16 ммоль), трет-бутил-3-аминоазетидин-1-карбоксилат (41 мг, 0,24 ммоль), Pd_2dba_3 (9,3 мг, 0,01 ммоль), 4,5-бис-(дифенилфосфино)-9,9-диметилксантен (Xantphos) (16 мг, 0,02 ммоль) и карбонат цезия (156 мг, 0,48 ммоль). Флакон герметизировали, из него откачивали воздух и заполняли его азотом (3×) перед добавлением 1,4-диоксана (1 мл) с помощью шприца. Смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 2 мин и затем нагревали при 90°C в течение 16 ч. Обеспечивали охлаждение смеси и затем разбавляли ее с помощью $EtOAc$, фильтровали через диатомовую землю и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 40% $EtOAc$ в гексанах, с получением трет-бутил-3-((4-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)амино)азетидин-1-карбоксилата (95 мг, 68%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

Масса/заряд: $ES^+ [M+H]^+ = 883$.

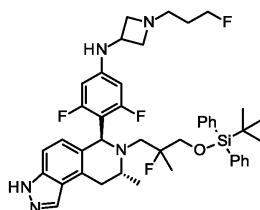
Получение диастереоизомерной смеси N-(4-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)-азетидин-3-амин



Муравьиную кислоту (0,5 мл, 13,04 ммоль) добавляли к трет-бутил-3-((4-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)амино)азетидин-1-карбоксилату (53 мг, 0,06 ммоль) и полученный раствор перемешивали при температуре окружающей среды в течение 18 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток растворяли в THF (0,5 мл) и обрабатывали с помощью водного раствора NaOH (5н.; 0,081 мл, 2,40 ммоль). Смесь перемешивали при 30°C в течение 20 ч и затем поддерживали при 40°C в течение 4 ч. Добавляли дополнительное количество водного раствора NaOH (5н.; 0,081 мл, 2,40 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 40°C в течение 46 ч перед нагреванием при 55°C в течение 5 ч. Обеспечивали охлаждение реакционной смеси до температуры окружающей среды. В то же время, в отдельный флакон добавляли HCl в диоксане (4н.; 0,38 мл, 1,5 ммоль) к перемешиваемому раствору трет-бутил-3-((4-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)амино)азетидин-1-карбоксилата (89 мг, 0,10 ммоль) в MeOH (0,5 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч и затем концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток объединяли с предыдущей реакционной смесью (в виде смеси в водном растворе NaOH (5н.) и THF). Новую смесь разбавляли с помощью DCM (5 мл), фазы разделяли и водную фазу экстрагировали с помощью DCM (2×5 мл). Объединенные органические слои высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением N-(4-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)азетидин-3-амина (177 мг) в виде бледно-желтого твердого вещества, которое применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 698.

Получение диастереоизомерной смеси N-(4-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амина

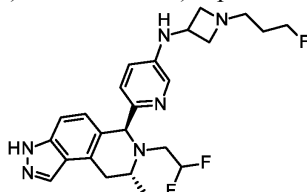


1-Фтор-3-йодпропан (0,026 мл, 0,16 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору N-(4-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)азетидин-3-амина (115 мг, 0,16 ммоль) и диизопропилэтиламина (0,058 мл, 0,33 ммоль) в NMP (0,75 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 16 ч при комнатной температуре перед тем, как ее разбавляли с помощью EtOAc и промывали с помощью насыщенного водного раствора NaHCO₃. Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором NaCl (2×5 мл), высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 1 до 20% MeOH в DCM, с получением N-(4-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2-фтор-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амина (82 мг, 66%) в виде бледно-желтой пленки.

Масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 758.

Пример 25.

Получение 6-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амина



HCl в диоксане (4н.; 0,86 мл, 3,4 ммоль) добавляли по каплям к раствору трет-бутил-3-((6-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-ил)амино)азетидин-1-карбоксилата (0,20 г, 0,34 ммоль) в MeOH (2,5 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением N-(азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-

8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин гидрохлорида (200 мг) в виде твердого вещества.

Масса/заряд: (ES⁺), [M+H]⁺ = 399.

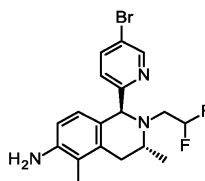
DMF (0,5 мл) и 1-фтор-3-йодпропан (0,036 мл, 0,34 ммоль) последовательно добавляли при температуре окружающей среды. Затем добавляли по каплям избыток диизопропилэтиламина (1,2 мл, 6,80 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч и затем концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством колонки C18 для флэш-хроматографии с обращенной фазой, градиент элюирования от 20 до 75% ацетонитрила в воде, содержащей 0,2% NH₄OH), с получением 6-((6*S*,8*R*)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин (45 мг, 29%) в виде твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆, 27°C) 1,04 (3H, d), 1,60-1,75 (2H, m), 2,51-2,70 (3H, m), 2,79-2,96 (3H, m), 3,03 (1H, dd), 3,13 (1H, br dd), 3,41-3,53 (1H, m), 3,74 (2H, br s), 3,98 (1H, br d), 4,45 (2H, dt), 4,86 (1H, s), 5,83 (1H, tt), 6,26 (1H, d), 6,74 (1H, d), 6,81 (1H, dd), 6,96 (1H, d), 7,18 (1H, d), 7,76 (1H, d), 8,04 (1H, s), 12,95 (1H, s);

масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺ = 459.

Процедуры, применяемые для получения трет-бутил-3-((6-((6*S*,*S**R*)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-ил)амино)азетидин-1-карбоксилата, представляющего собой исходный материал, описаны ниже.

Получение (1*S*,3*R*)-1-(5-бромпиридин-2-ил)-2-(2,2-дифторэтил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин

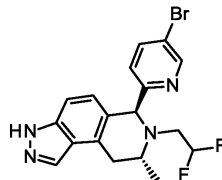


5-Бромпиридинальдегид (2,74 г, 14,7 ммоль) добавляли к раствору (R)-3-(2-((2,2-дифторэтил)амино)пропил)-2-метиланилина (1,6 г, 7,0 ммоль) в уксусной кислоте (34,4 мл) и воде (0,631 мл, 35,0 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 80°C в течение 3 ч и затем концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в MeOH (40 мл) и добавляли ацетат натрия (1,15 г, 14,0 ммоль) и гидрохлорид гидроксилamina (0,730 г, 10,5 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч и затем концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в воде, нейтрализовали с помощью насыщенного водного раствора NaHCO₃ и затем экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические слои концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 90% EtOAc в гексанах. Фракции с продуктом концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток дополнительно очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 90% EtOAc в гексанах, с получением (1*S*,3*R*)-1-(5-бромпиридин-2-ил)-2-(2,2-дифторэтил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (1,40 г, 49%) в виде смолы.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*₆, 27°C) 0,99 (3H, d), 1,93 (3H, s), 2,38-2,47 (1H, m), 2,51-2,62 (1H, m), 2,72 (1H, dd), 2,92-3,14 (1H, m), 3,23-3,29 (1H, m), 4,65 (2H, s), 4,79 (1H, s), 5,98 (1H, tt), 6,39 (2H, s), 7,22 (1H, d), 7,91 (1H, dd), 8,55 (1H, d);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 396.

Получение (6*S*,8*R*)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолина

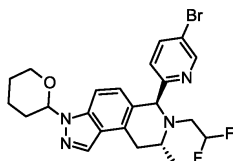


Уксусную кислоту (541 мг, 9,01 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору (1*S*,3*R*)-1-(5-бромпиридин-2-ил)-2-(2,2-дифторэтил)-3,5-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амин (714 мг, 1,80 ммоль) в CHCl₃ (8 мл). Реакционную смесь охлаждали до 0°C и добавляли по каплям раствор изопентилнитрита (422 мг, 3,60 ммоль) в CHCl₃ (1 мл). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 2 ч и затем гасили путем медленного добавления раствора NaHCO₃ (1,5 г, 18 ммоль) в воде (20 мл). Фазы разделяли и органический слой концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 5 до 35% EtOAc в гексанах, с получением (6*S*,8*R*)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолина (438 мг, 60%) в виде светло-коричневого твердого вещества.

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,13 (3H, d), 2,68-2,85 (1H, m), 2,91 (1H, dd), 2,98-3,17 (1H, m), 3,34 (1H, dd), 3,47-3,63 (1H, m), 5,05 (1H, s), 5,63 (1H, tt), 6,87 (1H, d), 7,19 (1H, d), 7,28 (1H, d), 7,71 (1H, dd), 8,04 (1H, d), 8,57 (1H, dd). NH индазола не наблюдали,

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 405$.

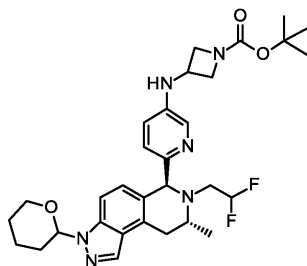
Получение (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пирозоло[4,3-*f*]изохинолина



3,4-Дигидро-2Н-пиран (0,294 мл, 3,23 ммоль) добавляли к раствору (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пирозоло[4,3-*f*]изохинолина (438 мг, 1,08 ммоль) и моногидрата пара-толуолсульфоновой кислоты (21 мг, 0,11 ммоль) в DCM (4 мл). Реакционную смесь нагревали при 100°C в течение 6 ч при условиях воздействия микроволнового излучения (300 Вт). Затем обеспечивали охлаждение реакционной смеси и затем промывали с помощью насыщенного водного раствора NaHCO_3 , высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 10 до 30% EtOAc в гексанах, с получением (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пирозоло[4,3-*f*]изохинолина (441 мг, 83%) в виде светло-коричневого смолистого твердого вещества.

Масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 491$.

Получение трет-бутил-3-((6-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пирозоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-ил)амино)азетидин-1-карбоксилата



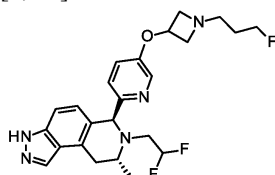
Во флакон загружали магнитный якорь, (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пирозоло[4,3-*f*]изохинолин (0,22 г, 0,44 ммоль), трет-бутил-3-аминоазетидин-1-карбоксилат (0,151 г, 0,88 ммоль), карбонат цезия (0,29 г, 0,88 ммоль) и прекатализатор 3-го поколения BrettPhos (0,040 г, 0,040 ммоль). Флакон герметизировали, из него откачивали воздух и заполняли его азотом. Добавляли 1,4-диоксан (4 мл) и из флакона снова откачивали воздух и заполняли его азотом. Реакционную смесь перемешивали при 110°C в течение 13 ч и затем концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 10 до 30% EtOAc в гексанах, с получением трет-бутил-3-((6-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пирозоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-ил)амино)азетидин-1-карбоксилата (0,20 г, 78%) в виде бежевого твердого вещества.

^1H ЯМР (300 МГц, CD_3OD , 27°C) 1,10 (3H, dd), 1,43 (9H, s), 1,56-1,72 (2H, m), 1,72-1,87 (1H, m), 1,92-1,99 (1H, m), 2,03-2,17 (1H, m), 2,38-2,53 (1H, m), 2,62-2,82 (1H, m), 2,88-3,14 (2H, m), 3,33-3,44 (1H, m), 3,49-3,60 (1H, m), 3,67-3,83 (3H, m), 3,92-4,02 (1H, m), 4,17-4,33 (3H, m), 4,91 (1H, s), 5,34-5,57 (1H, m), 5,69-5,77 (1H, m), 6,79 (1H, d), 6,89 (1H, dd), 7,05 (1H, dd), 7,34 (1H, d), 7,78-7,81 (1H, m), 8,07 (1H, s), NH анилина не наблюдали,

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 583$.

Пример 26.

Получение (6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-6-(3-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)пиридин-2-ил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пирозоло[4,3-*f*]изохинолина



HCl в диоксане (4н.; 0,97 мл, 3,9 ммоль) добавляли по каплям к раствору трет-бутил-3-((6-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-3-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пирозоло[4,3-

f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-ил)окси)азетидин-1-карбоксилата (0,227 г, 0,39 ммоль) в MeOH (3 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением (6S,8R)-6-(5-(азетидин-3-илокси)пиридин-2-ил)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина гидрохлорида (0,235 г; количество эквивалентов HCl не определено) в виде твердого вещества, которое применяли без дополнительной очистки.

Масса/заряд: (ES^+) , $[M+H]^+ = 400$.

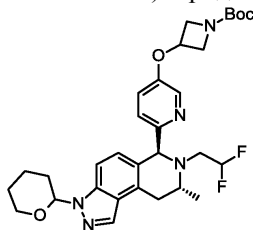
1-Фтор-3-йодпропан (0,041 мл, 0,34 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору (6S,8R)-6-(5-(азетидин-3-илокси)пиридин-2-ил)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина гидрохлорида (235 мг) в DMF (0,6 мл) при температуре окружающей среды. Добавляли по каплям избыток диизопропилэтиламина (1,36 мл, 7,80 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 18 ч при комнатной температуре и затем концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали с помощью колонки C18 для флэш-хроматографии с обращенной фазой, градиент элюирования от 20 до 75% ацетонитрила в (воде содержащей 0,2% NH_4OH). Фракции с продуктом объединяли и лиофилизировали с получением (6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-6-(5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)пиридин-2-ил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (53 мг, 30%) в виде твердого вещества.

1H ЯМР (500 МГц, $DMSO-d_6$, 27°C) 1,05 (3H, d), 1,60-1,77 (2H, m), 2,54-2,70 (3H, m), 2,85 (1H, dd), 2,97-3,22 (4H, m), 3,39-3,50 (1H, m), 3,87 (2H, br s), 4,45 (2H, dt), 4,80-4,92 (1H, m), 5,00 (1H, s), 5,93 (1H, tt), 6,78 (1H, d), 7,19-7,26 (3H, m), 8,05 (1H, s), 8,06 (1H, d), 12,97 (1H, s);

масса/заряд: ES^+ $[M+H]^+ = 460$.

Процедуры, применяемые для получения трет-бутил-3-((6-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-ил)окси)азетидин-1-карбоксилата, представляющего собой исходный материал, описаны ниже.

Получение трет-бутил-3-((6-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-ил)окси)азетидин-1-карбоксилата



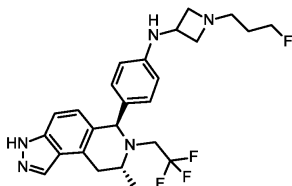
трет-Бутил-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилат (227 мг, 1,31 ммоль), (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин (215 мг, 0,44 ммоль), прекатализатор 3^{то} поколения RockPhos (37,1 мг, 0,04 ммоль) и карбонат цезия (285 мг, 0,88 ммоль) суспендировали в толуоле (4 мл) в герметично закрытом флаконе для микроволновой обработки. Реакционную смесь нагревали при 110°C в течение 1 ч при условиях воздействия микроволнового излучения (300 Вт). Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 20 до 60% EtOAc в гексанах, с получением трет-бутил-3-((6-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-ил)окси)азетидин-1-карбоксилата (227 мг, 89%) в виде твердого вещества.

1H ЯМР (300 МГц, CD_3OD , 27°C) 1,11 (3H, dd), 1,41-1,43 (9H, m), 1,61-1,66 (1H, m), 1,66-1,86 (2H, m), 2,04-2,17 (1H, m), 2,36-2,54 (1H, m), 2,59-2,79 (1H, m), 2,89-3,02 (1H, m), 3,03-3,17 (1H, m), 3,31-3,43 (1H, m), 3,48-3,60 (1H, m), 3,70 (2H, dd), 3,88-3,95 (2H, m), 4,09-4,13 (1H, m), 4,27-4,39 (2H, m), 4,99-5,08 (2H, m), 5,64 (1H, tt), 5,73 (1H, dt), 6,81 (1H, dd), 7,20 (1H, dd), 7,27 (1H, dd), 7,36 (1H, d), 8,04-8,10 (2H, m);

масса/заряд: ES^+ $[M+H]^+ = 584$.

Пример 27.

1-(3-Фторпропил)-N-(4-((6R,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)азетидин-3-амин



трет-Бутоксид натрия (2,118 г, 22,06 ммоль) и BrettPhos G3 (0,166 г, 0,18 ммоль) добавляли к дегазированному раствору 1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (0,632 г, 4,78 ммоль) и (6R,8R)-6-(4-

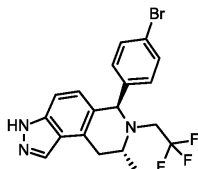
бромфенил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (1,56 г, 3,68 ммоль) в 1,4-диоксане (18,4 мл) и реакционную смесь нагревали до 90°C и перемешивали в течение ночи. После охлаждения реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (20 мл) и воды (20 мл) и слои разделяли. Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (20 мл), затем объединенные органические вещества высушивали и выпаривали. Очистку осуществляли посредством HPLC (колонка Waters CSH C18 OBD, 5 мкм диоксид кремния, 30 мм в диаметре, 100 мм в длину) с применением смесей воды (содержащей 0,1% NH₃ и MeCN в качестве элюентов) с уменьшающейся полярностью с получением смолы. Полученное поглощали в метаноле (5 мл), затем добавляли воду (95 мл) и смесь суспендировали в течение ночи при комнатной температуре. Полученное твердое вещество собирали посредством фильтрации, промывали с помощью 5% метанола в воде и высушивали в вакуумной печи при 50°C в течение ночи с получением 1-(3-фторпропил)-N-(4-((6R,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)азетидин-3-амин (0,935 г, 54%) в виде бесцветного твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃, 27°C) 1,13 (3H, d), 1,68-1,83 (2H, m), 2,59 (2H, t), 2,77 (1H, dd), 2,86 (2H, t), 2,89-2,99 (1H, m), 3,04 (1H, dd), 3,15-3,26 (1H, m), 3,37-3,48 (1H, m), 3,71-3,76 (2H, m), 3,93 (1H, d), 4,10 (1H, q), 4,43 (1H, t), 4,53 (1H, t), 4,99 (1H, s), 6,41-6,46 (2H, m), 6,97 (1H, d), 7,00 (2H, d), 7,26 (1H, s), 8,06 (1H, d), 10,10 (1H, s);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 476.

(6R,8R)-6-(4-Бромфенил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин, применяемый в качестве исходного материала, синтезировали следующим образом.

(6R,8R)-6-(4-Бромфенил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин



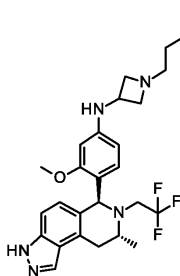
Трифторуксусную кислоту (1,85 мл) добавляли к раствору (R)-1-(1H-индазол-4-ил)-N-(2,2,2-трифторэтил)пропан-2-амин (2,0 г, 7,77 ммоль) и 4-бромбензальдегида (7,19 г, 38,9 ммоль) в толуоле (37 мл) и полученную смесь перемешивали при 90°C в течение 30 ч. Обеспечивали охлаждение реакционной смеси и разделяли ее между DCM (100 мл) и насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (50 мл). Слои разделяли и органический слой концентрировали in vacuo. Очистку осуществляли посредством колоночной хроматографии на силикагеле с элюированием с помощью 0-50% этилацетата в гептане с получением (6R,8R)-6-(4-бромфенил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (1,560 г, 47%) в виде пены и с соотношением 6:1 изомеров.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃, 27°C) 1,14 (3H, d), 2,80 (1H, dd), 2,94 (1H, dd), 3,05 (1H, dd), 3,25 (1H, dd), 3,33 (1H, ddd), 5,04 (1H, s), 6,95 (1H, d), 7,08-7,12 (2H, m), 7,28-7,33 (1H, m), 7,37-7,40 (2H, m), 8,08 (1H, d), 10,12 (1H, s);

масса/заряд: ES⁻ [M-H]⁻ = 422.

Пример 28.

Получение 1-(3-фторпропил)-N-(3-метокси-4-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)азетидин-3-амин



Прекализатор 3-го поколения BrettPhos (10 мг, 0,01 ммоль) и трет-бутоксид натрия (0,127 г, 1,32 ммоль) добавляли одной порцией к дегазированному раствору 1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (0,033 г, 0,25 ммоль) и (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (0,10 г, 0,22 ммоль) в 1,4-диоксане (1,10 мл). Затем оранжевую смесь погружали в масляную баню, которую предварительно нагревали до 50°C. Через 5 мин реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры. В отдельную колбу добавляли одной порцией трет-бутоксид натрия (1,81 г, 18,8 ммоль) и прекализатор 3-го поколения BrettPhos (0,17 г, 0,19 ммоль) к дегазированному раствору (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (1,71 г, 3,76 ммоль) и 1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин

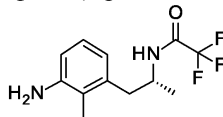
(0,597 г, 4,52 ммоль) в 1,4-диоксане (18,8 мл). Светло-оранжевую смесь погружали в масляную баню, которую предварительно нагревали до 50°C. Через 5 мин реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры. Сразу после охлаждения реакционные смеси объединяли, разбавляли этилацетатом и последовательно промывали водой (×2) и насыщенным водным раствором хлорида натрия. Органический слой высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученное оранжевое масло очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 10% метанола в DCM, с получением 1-(3-фторпропил)-N-(3-метокси-4-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)азетидин-3-амин (1,84 г, 92%) в виде твердого вещества и смеси транс- и цис-изомеров ~84:16, исходя из профиля UV HPLC. Данный материал выделяли с применением препаративной SFC (колонка: Chiralpak AD, 21,2×250 мм, 5 мкм; 75 мл/мин.) с элюированием с помощью 20% (метанола, содержащего 0,2% NH₄OH) в CO₂ с получением 1-(3-фторпропил)-N-(3-метокси-4-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)азетидин-3-амин (1,01 г) в виде светло-оранжевого твердого вещества и соответствующего ему второго элюируемого пика. Данный материал дополнительно очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 30% метанола в этилацетате, с получением 1-(3-фторпропил)-N-(3-метокси-4-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)азетидин-3-амин (0,954 г) в виде белого твердого вещества. Данный материал очищали в конечном итоге посредством препаративной HPLC (колонка: Xbridge C18, 30×100 мм, 5 мкм, 40 мл/мин.) с элюированием от 40 до 70% ацетонитрила в воде, содержащей 0,2% NH₄OH). Фракции с продуктом объединяли, промывали с помощью этилацетата (×3) и объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением 1-(3-фторпропил)-N-(3-метокси-4-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)азетидин-3-амин (551 мг, 27%) в виде твердого вещества, представляющего собой грязно-белую пену.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 1,04 (3H, d), 1,63 (2H, dtt), 2,44 (2H, t), 2,70 (2H, dd), 2,81 (1H, dd), 2,84-2,94 (1H, m), 3,09 (1H, dd), 3,34 (1H, br s), 3,44 (1H, dqd), 3,61 (2H, dd), 3,77 (3H, s), 3,90 (1H, m), 4,43 (2H, dt), 5,28 (1H, s), 5,87 (1H, dd), 6,02 (1H, d), 6,16 (1H, d), 6,32 (1H, d), 6,65 (1H, d), 7,18 (1H, d), 8,02 (1H, s), 12,95 (1H, s);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 506.

Процедуры, применяемые для получения (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина, представляющего собой исходный материал, описаны ниже.

Получение (R)-N-(1-(3-амино-2-метилфенил)пропан-2-ил)-2,2,2-трифторацетамида

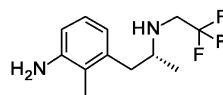


Этил-2,2,2-трифторацетат (3,75 мл, 31,5 ммоль) добавляли к темному янтарно-красному раствору (R)-3-(2-аминопропил)-2-метиланилина (5,17 г, 31,5 ммоль) и триэтиламина (4,83 мл, 34,6 ммоль) в MeOH (70,1 мл). Через 15 мин реакционную смесь концентрировали до темно-янтарного масла. Масло растворяли в этилацетате, промывали водой и водный слой экстрагировали с помощью этилацетата (×2). Объединенные органические слои высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученное масло очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 40% этилацетата в гексанах, с получением (R)-N-(1-(3-амино-2-метилфенил)пропан-2-ил)-2,2,2-трифторацетамида (6,47 г, 79%) в виде желто-оранжевого масла, которое кристаллизовали до светло-оранжевого твердого вещества при отстаивании.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 1,11 (3H, d), 2,01 (3H, s), 2,63 (1H, dd), 2,78 (1H, dd), 3,93-4,05 (1H, m), 4,71 (2H, s), 6,36 (1H, dd), 6,49 (1H, dd), 6,78 (1H, t), 9,25 (1H, br d);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 261.

Получение (R)-2-метил-3-(2-((2,2,2-трифторэтил)амино)пропил)анилина



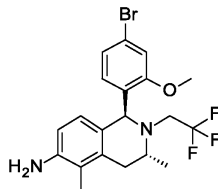
Комплекс боран-тетрагидрофуран в THF (1 M; 149 мл, 149 ммоль) добавляли с помощью шприца (6×25 мл) к раствору (R)-N-(1-(3-амино-2-метилфенил)пропан-2-ил)-2,2,2-трифторацетамида (6,47 г, 24,9 ммоль) в тетрагидрофуране (81 мл) при 0°C. Ледяную баню удаляли и при нагревании наблюдали выделение газа. Как только дальнейшее выделение газа переставало визуально наблюдаться (~20 мин) реакционную смесь нагревали до 65°C. Через 4 ч реакционную смесь охлаждали и поддерживали при комнатной температуре в течение 18 ч. Затем реакционную смесь охлаждали до 0°C и гасили посред-

вом добавления по каплям метанола (22 мл). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и после прекращения выделения газа реакционную смесь нагревали до 65°C. Затем через 14 ч реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и перемешивали при таких условиях в течение 3,5 дня перед концентрированием при пониженном давлении. Полученное масло очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 70% этилацетата в гексанах, с получением (R)-2-метил-3-(2-((2,2,2-трифторэтил)амино)пропил)анилина (5,62 г, 92%) в виде светло-желтого масла.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 0,90 (3H, d), 1,98 (3H, s), 2,09-2,20 (1H, m), 2,25-2,40 (1H, m), 2,72-2,84 (2H, m), 3,17-3,29 (2H, m), 4,69 (2H, s), 6,36 (1H, dd), 6,49 (1H, dd), 6,78 (1H, t);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 247

Получение (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-3,5-диметил-2-(2,2,2-трифторэтил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина



4-Бром-2-метоксибензальдегид (1,83 г, 8,53 ммоль) и (R)-2-метил-3-(2-((2,2,2-трифторэтил)амино)пропил)анилин (2,00 г, 8,12 ммоль) добавляли к раствору воды (0,7 мл, 41 ммоль) и уксусной кислоты (40 мл). Полученный светло-желтый раствор погружали в масляную баню, которую предварительно нагревали до 65°C и поддерживали при таких условиях в течение 18 ч. Затем полученный темно-янтарный раствор концентрировали при пониженном давлении (водяная баня: 55°C). Полученный остаток разбавляли этилацетатом и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия до подтверждения, что pH водного слоя составляет 8, с применением лакмусовой полоски для определения pH.

Органический слой высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в метаноле (20 мл) и гидрохлориде гидроксиламина (0,152 г, 2,19 ммоль) и добавляли избыток карбоната калия. Через 5 мин смесь разбавляли этилацетатом, фильтровали и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 50% этилацетата в гексанах, с получением (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-3,5-диметил-2-(2,2,2-трифторэтил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина в виде темно-янтарного масла с соотношением транс- и цис-изомеров 83:17, исходя из интегрирования при ЯМР. Масло повторно концентрировали из DCM и высушивали под вакуумом до получения твердого вещества, представляющего собой светло-янтарную пену (2,55 г, 71%). Незначительное количество данного материала (150 мг) выделяли с применением препаративной SFC (колонка: (S,S) Whelk-OI, 21,2×250 мм, 5 мкм; 75 мл/мин) с элюированием с помощью 15% (метанола, содержащего 0,2% NH₄OH) в CO₂ с получением более медленно элюируемого (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-3,5-диметил-2-(2,2,2-трифторэтил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина (101 мг) и более быстро элюируемого (1R,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-3,5-диметил-2-(2,2,2-трифторэтил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина (18 мг) в виде твердых веществ, представляющих собой блекло-желтую пену.

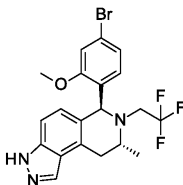
(1S,3R): ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 1,00 (3H, d), 1,95 (3H, s), 2,43 (1H, dd), 2,64-2,85 (2H, m), 3,19-3,43 (2H, m), 3,86 (3H, s), 4,67 (2H, s), 5,18 (1H, s), 6,29 (1H, d), 6,41 (1H, d), 6,60 (1H, d), 6,96 (1H, dd), 7,18 (1H, d);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 443.

(1R,3R): ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆, 27°C) 1,19 (3H, d), 1,94 (3H, s), 2,53-2,60 (1H, m), 2,78 (1H, br dd), 2,98-3,12 (1H, br m), 3,16-3,36 (2H, m), 3,84 (3H, s), 4,61 (2H, s), 5,31 (1H, s), 6,20 (1H, d), 6,33 (1H, d), 7,03-7,13 (2H, m), 7,19 (1H, d);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 443.

Получение (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина



Раствор нитрита натрия (0,413 г, 5,98 ммоль) в воде (3,83 мл) добавляли по каплям на протяжении 5 мин к перемешиваемому раствору (1S,3R)-1-(4-бром-2-метоксифенил)-3,5-диметил-2-(2,2,2-трифторэтил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-амина (2,55 г, 5,75 ммоль; смесь транс- и цис-изомеров 83:17) в пропионовой кислоте (19,2 мл), поддерживаемой при -15°C с применением охлаждающей ванны,

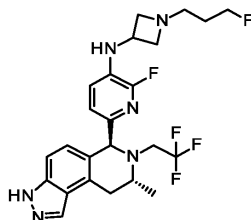
состоящей из льда, твердого хлорида натрия и насыщенного водного раствора хлорида натрия. Через 20 мин реакционную смесь разбавляли толуолом (100 мл), который предварительно охлаждали до -70°C . Полученную светло-желтую смесь энергично перемешивали и через 5 мин охлаждающую баню удаляли. При достижении комнатной температуры красную реакционную смесь поддерживали при таких условиях в течение 1,5 ч и затем промывали водой ($\times 2$). Объединенные водные слои экстрагировали с помощью этилацетата. Объединенные органические слои высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении до приблизительно 20% исходного объема. Данную смесь разбавляли с помощью EtOAc (20 мл) и промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия. Затем добавляли твердый карбонат калия до прекращения выделения газа и смесь тестировали в отношении основности с применением лакмусовой полоски для определения pH. Слои разделяли и органический слой высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученное масло очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 70% этилацетата в гексанах, с получением (6S,8R)-6-(4-бром-2-метоксифенил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (1,96 г, 75%) в виде твердого вещества, представляющего собой светло-оранжевую пену и смесь транс- и цис-изомеров $\sim 9:1$, исходя из интегрирования при ЯМР.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO- d_6 , 27°C) 1,06 (3H, d), 2,80-2,98 (2H, m), 3,15 (1H, br dd), 3,33-3,53 (2H, m), 3,90 (3H, s), 5,40 (1H, s), 6,63 (1H, d), 6,67 (1H, d), 6,96 (1H, dd), 7,20-7,27 (2H, m), 8,08 (1H, s), 13,00 (1H, s);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 454$.

Пример 29.

Получение 2-фтор-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амина



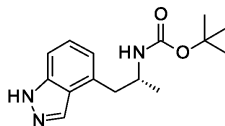
трет-Бутоксид натрия (1,08 г, 11,3 ммоль) и прекатализатор 3-го поколения BrettPhos (0,16 г, 0,18 ммоль) добавляли к дегазированному раствору (6S,8R)-6-(5-бром-6-фторпиридин-2-ил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (2,00 г, 4,51 ммоль) и 1-(3-фторпропил)азетидин-3-амина (0,90 г, 5,41 ммоль) в 1,4-диоксане (22,6 мл) при комнатной температуре. Красно-оранжевую смесь погружали в масляную баню, предварительно нагретую до 44°C . Через 22 мин оранжевую смесь удаляли от источника тепла и выливали в этилацетат и насыщенный водный раствор хлорида натрия и слои разделяли. Водный слой экстрагировали с помощью этилацетата и объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 30% метанола в этилацетате, с получением 2-фтор-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амина (1,58 г) в виде твердого вещества, представляющего собой светло-желтую пену и смесь транс- и цис-изомеров с соотношением приблизительно 84:16, исходя из интегрирования при ЯМР. Данный материал выделяли с помощью препаративной SFC (колонка: Lux Cellulose-4, $21,2 \times 250$ мм, 5 мкм; 70 мл/мин.) с элюированием с помощью 35% (метанола, содержащего 0,2% NH_4OH) в CO_2 с получением твердого вещества, представляющего собой светло-оранжевую пену. Данное твердое вещество повторно очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 30% метанола в этилацетате. Фракции с продуктом концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток поглощали в ацетонитриле, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением 2-фтор-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амина (1,03 г, 46%) в виде твердого вещества, представляющего собой светло-желтую пену.

^1H ЯМР (600 МГц, DMSO- d_6 , 27°C) 1,10 (3H, d), 1,64 (2H, dtt), 2,48 (2H, t), 2,83 (1H, dd), 2,86 (2H, br d), 2,97 (1H, br dq), 3,02 (1H, dd), 3,45 (1H, dqd), 3,54 (1H, dq), 3,63 (2H, br s), 3,96 (1H, dquin), 4,44 (2H, dt), 4,91 (1H, s), 6,13 (1H, br d), 6,87 (1H, d), 6,92-7,01 (2H, m), 7,25 (1H, d), 8,06 (1H, s), 13,00 (1H, s);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 495$.

Процедуры, применяемые для получения (6S,8R)-6-(5-бром-6-фторпиридин-2-ил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина, представляющего собой исходный материал, описаны ниже.

Получение трет-бутил(R)-(1-(1H-индазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамата

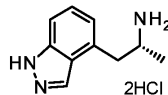


н-Бутиллитий в гексане (2,5 М; 96 мл, 241 ммоль) добавляли к раствору 4-бром-1Н-индазола (24,8 г, 126 ммоль) в THF (200 мл) при -78°C на протяжении 20 мин и смесь перемешивали при -78°C в течение 7 ч. Добавляли трет-бутил(R)-4-метил-1,2,3-оксатиазолидин-3-карбоксилат-2,2-диоксид (26 г, 110 ммоль) и полученную смесь перемешивали при -78°C в течение 15 мин. Охлаждающую баню удаляли и смесь перемешивали при таких условиях в течение 18 ч. Добавляли водный раствор лимонной кислоты (1н.; 130 мл) и перемешивание продолжали в течение 30 мин. Смесь экстрагировали с помощью гексанов и органический слой промывали насыщенным водным раствором карбоната натрия, высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния с элюированием с помощью 0-60% EtOAc в гексанах с получением трет-бутил(R)-1-(1Н-индазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамата (17,3 г, 57%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO- d_6 , 27°C) 1,02 (3H, br d), 1,34 (9H, s), 2,82 (1H, br dd), 3,09 (1H, br dd), 3,82 (1H, dt), 6,82 (1H, br d), 6,88 (1H, d), 7,24 (1H, dd), 7,35 (1H, br d), 8,18 (1H, s), 12,97 (1H, s);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 276$.

Получение (R)-1-(1Н-индазол-4-ил)пропан-2-амин дигидрохлорида

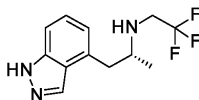


HCl диоксан (4 М, 100 мл, 400 ммоль) добавляли к суспензии трет-бутил(R)-1-(1Н-индазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамата (17,3 г, 62,7 ммоль) в DCM (200 мл) при комнатной температуре на протяжении 10 мин. Полученную взвесь перемешивали в течение ночи и затем концентрировали при пониженном давлении с получением (R)-1-(1Н-индазол-4-ил)пропан-2-амин (15,9 г, 102%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO- d_6 , 27°C) 1,14 (3H, d), 2,97 (1H, dd), 3,40 (1H, dd), 3,45-3,62 (1H, m), 6,96 (1H, d), 7,29 (1H, dd), 7,45 (1H, d), 7,97-8,27 (3H, br s), 8,29 (1H, d);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 176$.

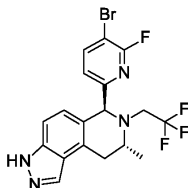
Получение (R)-1-(1Н-индазол-4-ил)-N-(2,2,2-трифторэтил)пропан-2-амин



Карбонат калия (4,75 г, 34,3 ммоль) добавляли к перемешиваемой суспензии соли (R)-1-(1Н-индазол-4-ил)пропан-2-амин, представляющей собой дигидрохлорид (2,13 г, 8,58 ммоль), в ацетонитриле (25 мл), затем добавляли по каплям 2,2,2-трифторэтилтрифторметансульфонат (2,191 г, 9,44 ммоль) в DCM (12,6 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 дня. Затем добавляли дополнительное количество 2,2,2-трифторэтилтрифторметансульфоната (398 мг) в DCM (0,3 мл). Реакционную смесь нагревали до 60°C и через 3 ч реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли дополнительную порцию 2,2,2-трифторэтилтрифторметансульфоната (398 мг) в виде раствора в DCM (0,3 мл). Через 18 ч реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с уменьшением объема и затем разбавляли с помощью DCM. Смесь промывали водой и органический слой высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 60% этилацетата в гексанах, с получением (R)-1-(1Н-индазол-4-ил)-N-(2,2,2-трифторэтил)пропан-2-амин (2,06 г, 93%) в виде смолы.

Масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 257$.

Получение (6S,8R)-6-(5-бром-6-фторпиридин-2-ил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пирозоло[4,3-*f*]изохинолина



Трифторуксусную кислоту (1,7 мл) добавляли к раствору (R)-1-(1Н-индазол-4-ил)-N-(2,2,2-трифторэтил)пропан-2-амин (1,83 г, 7,11 ммоль) и 5-бром-6-фторпиридинальдегида (1,45 г, 7,11 ммоль) в толуоле (33,8 мл). Реакционную смесь нагревали при 90°C в течение 24 ч и затем концентрировали с

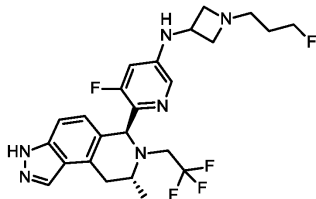
уменьшением объема. Затем смесь разбавляли дихлорметаном и подщелачивали с помощью насыщенного водного раствора гидрокарбоната натрия. Органический слой высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 50% этилацетата в гексанах, с получением (6S,8R)-6-(5-бром-3-фторпиридин-2-ил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолина (2,01 г, 64%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*₆, 27°C) 1,11 (3H, d), 2,89 (1H, br dd), 2,94-3,09 (2H, m), 3,31-3,42 (1H, m), 3,52-3,71 (1H, m), 5,07 (1H, s), 6,96 (1H, d), 7,24-7,36 (2H, m), 8,06 (1H, d), 8,23 (1H, dd), 13,02 (1H, s);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 443.

Пример 30.

5-Фтор-N-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин



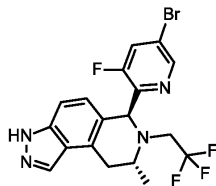
1-(3-Фторпропил)азетидин-3-амин (435 мг, 3,29 ммоль), (6S,8R)-6-(5-бром-3-фторпиридин-2-ил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин (730 мг, 1,65 ммоль) и трет-бутоксид натрия (950 мг, 9,88 ммоль) суспендировали в 1,4-диоксане (18,3 мл). Смесь дегазировали и добавляли катализатор Brettphos 3G (149 мг, 0,16 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 80°C в течение 1 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли этилацетатом (10 мл) и промывали водой (10 мл). Органический слой высушивали над сульфатом магния, фильтровали и концентрировали под вакуумом. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной LCMS (колонок Waters XSelect CSH C18, 5 мкм диоксид кремния, 50 мм в диаметре, 100 мм в длину) с применением смесей воды (содержащей 1% NH₃) и MeCN с уменьшающейся полярностью в качестве элюентов. Образец растворяли в MeOH и разделяли посредством SFC с применением следующих хроматографических условий: колонка: Phenomenex Lux C1, 30×250 мм, 5 мкм, подвижная фаза: 30% MeOH + 0,1% NH₃/70% scCO₂, с получением 5-фтор-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин (396 мг, 49%) в виде желтого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃, 27°C) 1,15 (3H, d), 1,69-1,81 (2H, m), 2,60 (2H, t), 2,77 (1H, dd), 2,92-3,03 (3H, m), 3,14-3,31 (2H, m), 3,65-3,79 (3H, m), 4,04 (1H, q), 4,43 (2H, t), 4,53 (1H, t), 5,35 (1H, s), 6,54 (1H, dd), 6,76 (1H, d), 7,00 (1H, d), 7,66 (1H, d), 7,93 (1H, d), 11,06 (1H, s);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 495.

(6S,8R)-6-(5-Бром-3-фторпиридин-2-ил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин, применяемый в качестве исходного материала, синтезировали следующим образом.

(6S,8R)-6-(5-Бром-3-фторпиридин-2-ил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин



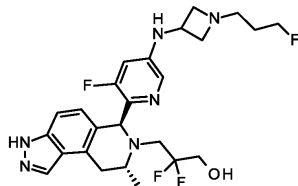
Трифторуксусную кислоту (2,13 мл) добавляли к раствору (R)-1-(1H-индазол-4-ил)-N-(2,2,2-трифторэтил)пропан-2-амин (1,15 г, 4,47 ммоль) и 5-бром-3-фторпиридинальдегида (912 мг, 4,47 ммоль) в толуоле (42,6 мл) и полученную смесь перемешивали при 100°C в течение 30 мин. Реакционную смесь выпаривали и остаток разделяли между DCM (20 мл) и 2 М NaOH (20 мл). Слои разделяли и органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 40% EtOAc в гептане. Фракции, содержащие продукт, выпаривали до сухого состояния с получением (6S,8R)-6-(5-бром-3-фторпиридин-2-ил)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолина (1,15 г, 58%) в виде желтого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃, 27°C) 1,16 (3H, d), 2,86 (1H, dd), 3,01 (1H, dq), 3,19-3,35 (2H, m), 3,68-3,78 (1H, m), 5,42 (1H, s), 6,80 (1H, d), 7,20 (1H, d), 7,59 (1H, dd), 8,05 (1H, d), 8,27-8,5 (1H, m);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ 443.

Пример 31.

2,2-Дифтор-3-((6S,8R)-6-(3-фтор-5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)пиридин-2-ил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-7-ил)пропан-1-ол



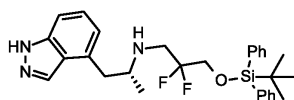
Фторид тетрабутиламмония (1,0 М в THF, 0,65 мл, 0,65 ммоль) добавляли к раствору 6-((6S,8R)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)-5-фтор-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин (320 мг, 0,43 ммоль) в THF (2,66 мл) при комнатной температуре и перемешивали в течение 64 ч. Реакционную смесь выпаривали и затем растворяли в DMSO и неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии с обращенной фазой (Puriflash, 220 г, C18, колонка 30 мкм) с применением смесей воды (содержащей 1% NH₃) и MeCN с уменьшающейся полярностью в качестве элюентов. Фракции, содержащие необходимое соединение, выпаривали до сухого состояния с получением неочищенного продукта (143 мг). Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 20% MeOH в EtOAc. Фракции, содержащие продукт, выпаривали до сухого состояния с получением 2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(3-фтор-5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)пиридин-2-ил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-7-ил)пропан-1-ола (118 мг, 54%) в виде смеси изомеров. Материал повторно очищали посредством препаративной HPLC (колонка Waters XSelect CSH C18, 5 мкм диоксид кремния, 30 мм в диаметре, 100 мм в длину) с применением смесей воды (содержащей 0,1% муравьиной кислоты) и MeCN с уменьшающейся полярностью в качестве элюентов. Фракции, содержащие необходимое соединение, объединяли и очищали с помощью ионообменной хроматографии с применением колонки SCX-2. Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 1 М NH₃/MeOH и фракции, содержащие продукт, выпаривали до сухого состояния с получением 2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(3-фтор-5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)пиридин-2-ил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-7-ил)пропан-1-ола (62,1 мг, 29%) в виде бесцветного твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO, 27°C) 1,03 (3H, dd), 1,64 (2H, dq), 2,44 (2H, t), 2,60-2,66 (1H, m), 2,79 (3H, dd), 2,97 (1H, dd), 3,04-3,15 (1H, m), 3,50-3,73 (5H, m), 3,89-3,97 (1H, m), 4,39 (1H, t), 4,48 (1H, t), 5,21 (1H, s), 5,26 (1H, t), 6,58 (1H, d), 6,65-6,71 (2H, m), 7,19 (1H, d), 7,55 (1H, dd), 8,03 (1H, s), 12,94 (1H, s);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 507.

6-((6S,8R)-7-(3-((трет-Бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)-5-фтор-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин, применяемый в качестве исходного материала, синтезировали следующим образом.

(R)-N-(1-(1H-Индазол-4-ил)пропан-2-ил)-3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропан-1-амин

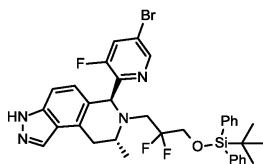


3-((трет-Бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропилтрифторметансульфонат (2,59 г, 5,36 ммоль) добавляли к раствору (R)-1-(1H-индазол-4-ил)пропан-2-амин (0,94 г, 5,36 ммоль) и DIPEA (1,39 мл, 8,05 ммоль) в 1,4-диоксане (38,9 мл) и реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение 18 ч. Реакционную смесь выпаривали, затем остаток разбавляли с помощью EtOAc и промывали водой и водный слой дополнительно экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические слои промывали насыщенным соевым раствором, высушивали над сульфатом магния, фильтровали и выпаривали до сухого состояния. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 50% EtOAc в гептане. Чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением (R)-N-(1-(1H-индазол-4-ил)пропан-2-ил)-3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропан-1-амин (1,515 г, 52%) в виде бесцветной смолы.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO, 27°C) 0,92 (3H, d), 0,97 (9H, s), 1,78-1,86 (1H, m), 2,73 (1H, dd), 2,98-3,14 (4H, m), 3,83 (2H, td), 6,85 (1H, d), 7,20 (1H, dd), 7,34 (1H, d), 7,41-7,50 (6H, m), 7,58-7,64 (4H, m), 8,08 (1H, s), 12,98 (1H, s);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 508.

(6R,8R)-6-(5-Бром-3-фторпиридин-2-ил)-7-(3-((бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин

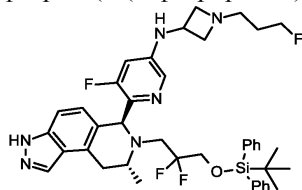


Трифторуксусную кислоту (319 мкл) добавляли к раствору (R)-N-(1-(1H-индазол-4-ил)пропан-2-ил)-3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропан-1-амин (681 мг, 1,34 ммоль) и 5-бром-3-фторпиридина (287 мг, 1,41 ммоль) в толуоле (6,39 мл) и полученную смесь перемешивали при 110°C в течение 1 ч. Обеспечивали охлаждение реакционной смеси до комнатной температуры, ее выпаривали до сухого состояния и растворяли в DMSO. Неочищенный продукт очищали посредством флэш-хроматографии с обращенной фазой (колонка 100g RediseP Rf C18) с применением смесей воды (содержащей 0,1% муравьиную кислоту) и MeCN (60-100%) с уменьшающейся полярностью в качестве элюентов. Фракции, содержащие необходимое соединение, объединяли и выделяли посредством ионообменной хроматографии с применением колонки SCX-2. Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 1 М NH₃/MeOH и чистые фракции выпаривали до сухого состояния с получением (6S,8R)-6-(5-бром-3-фторпиридин-2-ил)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (763 мг, 82%) в виде грязно-белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO, 27°C) 0,99 (9H, s), 1,04 (3H, d), 2,74-2,89 (2H, m), 2,97-3,04 (1H, m), 3,31 (1H, s), 3,54-3,62 (1H, m), 3,78 (1H, q), 3,92-4,02 (1H, m), 5,36 (1H, s), 6,72 (1H, d), 7,23 (1H, d), 7,41-7,49 (6H, m), 7,57-7,61 (4H, m), 8,04 (1H, dd), 8,09 (1H, s), 8,38 (1H, d), 13,01 (1H, s);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 693.

6-((6S,8R))-7-(3-((трет-Бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-5-фтор-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин

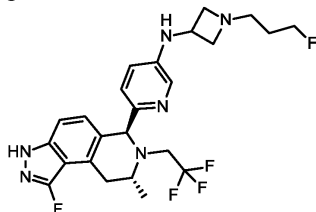


1-(3-Фторпропил)азетидин-3-амин (114 мг, 0,86 ммоль), (6S,8R)-6-(5-бром-3-фторпиридин-2-ил)-7-(3-((трет-бутилдифенилсилил)окси)-2,2-дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин (300 мг, 0,43 ммоль) и трет-бутоксид натрия (249 мг, 2,59 ммоль) суспендировали в дегазированном 1,4-диоксане (4,81 мл). Добавляли прекатализатор Brettphos 3G (39,2 мг, 0,04 ммоль) и из смеси откачивали воздух и продували ее азотом (x2) и затем реакционную смесь нагревали до 80°C в течение 45 мин. Обеспечивали охлаждение реакционной смеси до комнатной температуры, ее разбавляли с помощью EtOAc и промывали водой. Водный слой дополнительно экстрагировали с помощью EtOAc и объединенные органические слои промывали насыщенным соевым раствором, высушивали над сульфатом магния, фильтровали, и выпаривали до сухого состояния, и применяли непосредственно без дополнительной очистки.

Масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 745.

Пример 32.

6-((6S,8R))-1-Фтор-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,9,8-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохин-6-ил)-N-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин

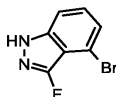


трет-Бутоксид натрия (116 мг, 1,20 ммоль) и BrettPhos G3 (9,09 мг, 10,04 мкмоль) добавляли к дегазированному раствору (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-1-фтор-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (89 мг, 0,20 ммоль) и 1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин (39,8 мг, 0,30 ммоль) в 1,4-диоксане (1,00 мл) и реакционную смесь нагревали до 90°C и перемешивали в течение 6 ч. После охлаждения реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc и воды и слои разделяли. Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc, затем объединенные органические вещества высушивали над сульфатом натрия и выпаривали. Очистку осуществляли посредством HPLC (колонка Waters CSH C18 OBD, 5 мкм диоксид кремния, 30 мм в диаметре, 100 мм в длину) с применением смесей воды (содержащей 0,1% NH₃ и MeCN в качестве элюентов) с уменьшающейся полярностью с получением продукта (42,0 мг, 42%) в виде пленки.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,13 (3H, d), 1,69-1,84 (2H, m), 2,61 (2H, td), 2,76 (1H, dd), 2,94 (3H, ddd), 3,16-3,28 (2H, m), 3,45-3,54 (1H, m), 3,67-3,76 (2H, m), 4,09 (1H, dt), 4,24 (1H, d), 4,43 (1H, td), 4,53 (1H, td), 5,02 (1H, s), 6,76 (1H, dd), 6,81 (1H, d), 6,89 (1H, dd), 7,39 (1H, d), 7,81 (1H, d), 11,10 (1H, s);
масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 495$.

(6S,8R)-6-(5-Бромпиридин-2-ил)-1-фтор-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин, применяемый в качестве исходного материала, синтезировали следующим образом.

4-Бром-3-фтор-1H-индазол

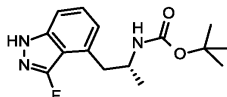


Selectfluor (49,40 г, 139,6 ммоль) добавляли к раствору 4-бром-1H-индазола (25,0 г, 127 ммоль) в DMF (254 мл) и реакционную смесь нагревали до 70°C в течение ночи. После охлаждения реакционную смесь выливали в воду. Осажденное твердое вещество фильтровали и высушивали, затем неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 30% EtOAc в гептане. Фракции, содержащие продукт, выпаривали до сухого состояния с получением 4-бром-3-фтор-1H-индазола (4,20 г, 15%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 7,24-7,28 (1H, m), 7,32-7,36 (2H, m), 9,20 (1H, s);

масса/заряд: $\text{ES}^- [\text{M}-\text{H}]^- = 213$.

трет-Бутил(R)-(1-(3-фтор-1H-индазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамат

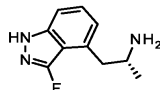


n-Бутиллитий (1,6 М, 51,9 мл, 83,01 ммоль) добавляли к 4-бром-3-фтор-1H-индазолу (8,50 г, 39,5 ммоль) в THF (124 мл) при -78°C и реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин, нагревали до -50°C в течение 15 мин, затем охлаждали снова до -78°C. Добавляли трет-бутил(R)-4-метил-1,2,3-оксатиазолидин-3-карбоксилат-2,2-диоксид (10,32 г, 43,48 ммоль) в THF (20 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин перед тем, как обеспечивали ее нагревание до -10°C на протяжении 30 мин. Добавляли 1н. лимонную кислоту (200 мл) и смесь перемешивали в течение 15 мин перед экстракцией с помощью EtOAc (x2). Объединенные органические вещества высушивали над сульфатом магния и выпаривали. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния, градиент элюирования от 0 до 40% EtOAc в гептане. Фракции, содержащие продукт, выпаривали до сухого состояния с получением трет-бутил(R)-(1-(3-фтор-1H-индазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамата (5,93 г, 51%) в виде бесцветного твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,17 (3H, d), 1,35 (9H, s), 3,09 (2H, d), 4,00-4,09 (1H, m), 4,41-4,49 (1H, m), 6,97 (1H, d), 7,22 (1H, dd), 7,33 (1H, dd), 9,36 (1H, s);

масса/заряд: $\text{ES}^- [\text{M}-\text{H}]^- = 292$.

(R)-1-(3-Фтор-1H-индазол-4-ил)пропан-2-амин

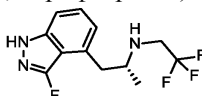


4н. хлористоводородную кислоту в диоксане (23,86 мл, 95,45 ммоль) добавляли к трет-бутил(R)-(1-(3-фтор-1H-индазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамату (5,60 г, 19,1 ммоль) в MeOH (23,9 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Неочищенную смесь концентрировали, затем суспендировали в EtOAc (100 мл) и промывали с помощью насыщенного водного раствора бикарбоната натрия (50 мл). Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (x5), затем объединенные органические вещества высушивали над сульфатом натрия и выпаривали с получением (R)-1-(3-фтор-1H-индазол-4-ил)пропан-2-амин (3,10 г, 84%) в виде желтого масла, которое затвердевало при отстаивании.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,19 (3H, d), 2,86 (1H, dd), 3,09 (1H, dd), 3,33 (1H, dddd), 6,96 (1H, d), 7,22 (1H, dd), 7,33 (1H, dd), 9,93 (1H, s);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 194$.

(R)-1-(3-Фтор-1H-индазол-4-ил)-N-(2,2,2-трифторэтил)пропан-2-амин



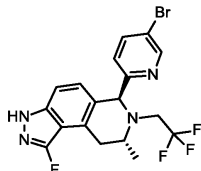
0,1 М раствор 2,2,2-трифторэтилтрифторметансульфоната в DCM (25,9 мл, 2,59 ммоль) добавляли к (R)-1-(3-фтор-1H-индазол-4-ил)пропан-2-амину (0,4 г, 2,07 ммоль) и DIPEA (0,541 мл, 3,11 ммоль) в 1,4-диоксане (20 мл) и полученную смесь перемешивали при 75°C в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали in vacuo и разделяли между этилацетатом (25 мл) и насыщенным водным раствором

бикарбоната натрия (25 мл). Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью этилацетата (25 мл). Объединенные органические вещества промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (25 мл), высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Полученную смолу поглощали в метаноле и наносили на предварительно увлажненный (метанолом) картридж SCX-2. Картридж промывали метанолом и элюировали с помощью 1 М аммиака в метаноле. Элюат концентрировали *in vacuo* с получением (R)-1-(3-фтор-1H-индазол-4-ил)-N-(2,2,2-трифторэтил)пропан-2-амина (0,455 г, 80%) в виде коричневой смолы.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,11 (3H, d), 2,92 (1H, dd), 3,07-3,22 (4H, m), 6,96 (1H, d), 7,25 (1H, dd), 7,34 (1H, dd), 9,50 (1H, s);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 276$.

(6S,8R)-6-(5-Бромпиридин-2-ил)-1-фтор-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин

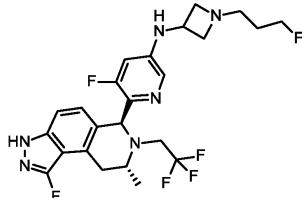


Трифторуксусную кислоту (87 мкл) добавляли к раствору (R)-1-(3-фтор-1H-индазол-4-ил)-N-(2,2,2-трифторэтил)пропан-2-амина (100 мг, 0,36 ммоль) и 5-бромпиридинальдегида (67,6 мг, 0,36 ммоль) в толуоле (0,87 мл) и полученную смесь перемешивали при 90°C в течение 1 ч. Обеспечивали охлаждение реакционной смеси до комнатной температуры и разделяли между DCM (5 мл) и насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (5 мл). Слои разделяли и органический слой концентрировали *in vacuo*. Очистку осуществляли посредством колоночной хроматографии на силикагеле с элюированием с помощью 0-50% этилацетата в гептане с получением (6S,8R)-6-(5-бромпиридин-2-ил)-1-фтор-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (89 мг, 55%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,16 (3H, d), 2,92-3,00 (2H, m), 3,253,36 (2H, m), 3,46-3,52 (1H, m), 5,07 (1H, s), 6,98 (1H, d), 7,09 (1H, dd), 7,43 (1H, d), 7,77 (1H, dd), 8,55 (1H, dd), 9,09 (1H, s);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 443$.

Пример 33 5-Фтор-6-((6S,8R)-1-фтор-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин



трет-Бутоксид натрия (3,12 г, 32,52 ммоль) и BrettPhos G3 (0,245 г, 0,27 ммоль) добавляли к дегазированному раствору (6S,8R)-6-(5-бром-3-фторпиридин-2-ил)-1-фтор-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (2,50 г, 5,42 ммоль) и 1-(3-фторпропил)азетидин-3-амина (1,075 г, 8,13 ммоль) в 1,4-диоксане (27,1 мл) и реакционную смесь нагревали до 60°C и перемешивали в течение 2 ч. После охлаждения реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc и воды и слои разделяли. Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc, затем объединенные органические вещества высушивали над сульфатом натрия и выпаривали. Очистку осуществляли сначала посредством колоночной хроматографии на силикагеле с элюированием с помощью 0-100% (10% метанола в этилацетате) в гептане, затем с помощью колонки Interchim с обращенной фазой (0,1% NH_3 и MeCN в качестве элюентов) с получением продукта в виде смеси изомеров. Продукты разделяли посредством SFC; образец растворяли в MeOH и разделяли с применением следующих условий SFC: колонка: Phenomenex C4, 30x250 мм, 5 мкм, подвижная фаза: 25% MeOH + 0,1% NH_3 , скорость потока: 100 мл/мин., BPR 120 бар, температура колонки: 40°C, с получением 5-фтор-6-((6S,8R)-1-фтор-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амина (1,780 г, 64%) в виде пены.

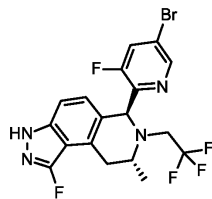
^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 , 27°C) 1,15 (3H, d), 1,67-1,81 (2H, m), 2,59 (2H, t), 2,81-3,03 (4H, m), 3,17-3,34 (2H, m), 3,70 (3H, q), 4,01-4,08 (1H, m), 4,20 (1H, d), 4,43 (1H, t), 4,53 (1H, t), 5,32 (1H, s), 6,54 (1H, dd), 6,81 (1H, d), 6,95 (1H, d), 7,64-7,68 (1H, m), 9,46 (1H, s);

масса/заряд: $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 513$.

(6S,8R)-6-(5-Бром-3-фторпиридин-2-ил)-1-фтор-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин, применяемый в качестве исходного материала, синтезировали следующим образом.

(6S,8R)-6-(5-Бром-3-фторпиридин-2-ил)-1-фтор-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-

3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин



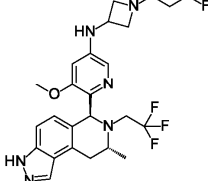
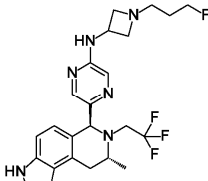
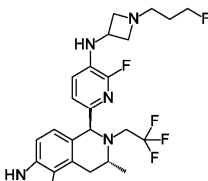
Трифторуксусную кислоту (2,16 мл) добавляли к раствору (R)-1-(3-фтор-1H-индазол-4-ил)-N-(2,2,2-трифторэтил)пропан-2-амин (2,50 г, 9,08 ммоль) и 5-бром-3-фторпиридинальдегида (1,85 г, 9,08 ммоль) в толуоле (43,3 мл) и полученную смесь перемешивали при 90°C в течение 90 мин. Обеспечивали охлаждение реакционной смеси и разделяли ее между DCM (50 мл) и насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (50 мл). Слои разделяли и органический слой концентрировали *in vacuo*. Очистку осуществляли посредством колоночной хроматографии на силикагеле с элюированием с помощью 0-50% этилацетата в гептане с получением (6S,8R)-6-(5-бром-3-фторпиридин-2-ил)-1-фтор-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина (2,90 г, 69%) в виде белого твердого вещества.

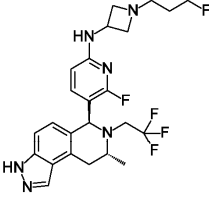
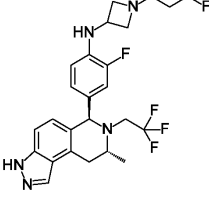
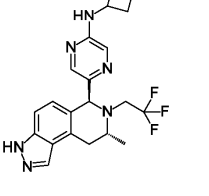
¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃, 27°C) 1,15 (3H, d), 2,88-3,04 (2H, m), 3,24-3,35 (2H, m), 3,63-3,71 (1H, m), 5,39 (1H, s), 6,83 (1H, d), 7,08 (1H, dd), 7,60 (1H, dd), 8,36 (1H, dd), 9,13 (1H, s);

масса/заряд: ES⁺ [M+H]⁺ = 461.

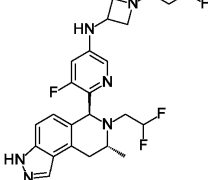
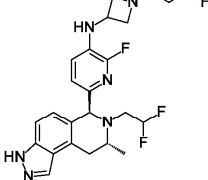
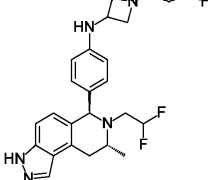
Примеры 34-73 (таблица ниже) получали с применением способов синтеза, аналогичных описанным выше.

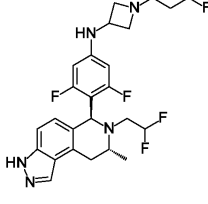
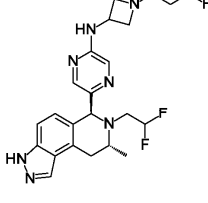
№ примера	Структура	Название	¹ H ЯМР	LCMS [M+H]
34		N-(1-(3-Фторпропил)азетидин-3-ил)-N-метил-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 1,15 (3H, d), 1,65 - 1,86 (2H, m), 2,59 (2H, t), 2,74 - 2,84 (1H, m), 2,85 (3H, s), 2,89 - 3,09 (3H, m), 3,16 - 3,41 (2H, m), 3,59 (1H, td), 3,64 - 3,80 (2H, m), 4,10 (1H, q), 4,44 (1H, t), 4,53 (1H, t), 5,06 (1H, s), 6,89 (1H, d), 6,99 (1H, dd), 7,11 (1H, d), 7,30 (1H, d), 7,96 - 7,98 (2H, m), 10,78 (1H, s).	491
35		N-(1-(3-Фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-6-дейтеро-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 1,14 (3H, d), 1,76 (2H, dq), 2,62 (2H, t), 2,85 (1H, dd), 2,93 - 2,98 (2H, m), 2,99 - 3,04 (1H, m), 3,21 - 3,31 (2H, m), 3,55 - 3,63 (1H, m), 3,73 (2H, s), 4,11 (2H, s), 4,44 (1H, t), 4,53 (1H, t), 6,80 (1H, dd), 6,90 (1H, d), 7,16 (1H, d), 7,21 (1H, d), 7,84 (1H, d), 8,01 (1H, s)	478
36		N-(1-(3-Фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-1-дейтеро-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 1,14 (3H, d), 1,71 - 1,81 (2H, m), 2,62 (2H, t), 2,86 (1H, dd), 2,93 - 3,04 (3H, m), 3,20 - 3,32 (2H, m), 3,59 (1H, d), 3,73 (2H, s), 4,11 (2H, s), 4,43 (1H, t), 4,53 (1H, t), 5,03 (1H, s), 6,80 (1H, d), 6,90 (1H, d), 7,18 (2H, dd), 7,84 (1H, s)	478

37		<i>N</i> -(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-5-метокси-6-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин	¹ H ЯМР (300 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆ , 27 °C) 1,08 (3H, d), 1,52 - 1,78 (2H, m), 2,46 (2H, t), 2,63 - 2,84 (3H, m), 2,87 - 3,07 (2H, m), 3,34 - 3,50 (1H, m), 3,58 - 3,69 (2H, m), 3,80 (3H, s), 3,83 - 4,07 (2H, m), 4,45 (2H, dt), 5,42 (1H, s), 6,24 (1H, d), 6,54 (1H, d), 6,66 (1H, d), 7,17 (1H, d), 7,26 (1H, d), 8,03 (1H, s), 12,90 (1H, s).	507
38		5-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-1-фтор-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-6-ил)- <i>N</i> -(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиразин-2-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 1,16 (3H, d), 1,68 - 1,85 (2H, m), 2,63 (2H, t), 2,83 (1H, dd), 2,93 - 2,98 (1H, m), 2,99 - 3,07 (2H, m), 3,21 (1H, dd), 3,24 - 3,35 (1H, m), 3,49 - 3,54 (1H, m), 3,72 (2H, t), 4,44 (1H, t), 4,47 (1H, d), 4,53 (1H, t), 5,05 (1H, s), 5,37 (1H, d), 6,89 (1H, d), 6,96 (1H, dd), 7,75 (1H, d), 8,17 (1H, d), 10,63 (1H, s).	496
39		2-фтор-6-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-1-фтор-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-6-ил)- <i>N</i> -(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 1,14 (3H, d), 1,69 - 1,86 (2H, m), 2,63 (2H, t), 2,83 (1H, dd), 2,91 - 3,08 (3H, m), 3,13 - 3,38 (2H, m), 3,52 (1H, ddd), 3,77 (2H, q), 4,11 (1H, q), 4,31 - 4,39 (1H, m), 4,44 (1H, t), 4,53 (1H, t), 4,95 (1H, s), 6,85 (1H, dd), 6,89 - 6,98 (2H, m), 7,23 (1H, d), 10,41 (1H, s).	513

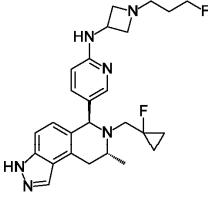
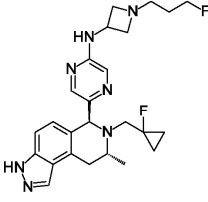
40		6-Фтор- <i>N</i> -(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-5-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-6-ил)пиридин-2-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 1,14 (3H, d), 1,83 (2H, dp), 2,76 (2H, s), 2,81 - 2,91 (1H, m), 2,90 - 3,03 (1H, m), 3,11 - 3,32 (4H, m), 3,53 (1H, dt), 3,84 (2H, d), 4,46 (2H, q), 4,55 (1H, t), 5,20 (1H, s), 5,98 - 6,10 (1H, m), 6,83 (1H, d), 6,99 - 7,08 (1H, m), 7,23 (1H, d), 8,06 (1H, d), 10,48 (1H, s).	495
41		<i>N</i> -(2-Фтор-4-((6 <i>R</i> ,8 <i>R</i>)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 1,14 (3H, d), 1,69 - 1,83 (2H, m), 2,59 (2H, t), 2,77 (1H, dd), 2,84 - 2,89 (2H, m), 2,89 - 2,98 (1H, m), 3,03 (1H, dd), 3,21 (1H, dq), 3,38 (1H, ddd), 3,71 - 3,80 (2H, m), 4,04 - 4,16 (2H, m), 4,44 (1H, t), 4,53 (1H, t), 4,97 (1H, s), 6,41 (1H, t), 6,76 (1H, dd), 6,90 (1H, dd), 6,97 (1H, d), 7,28 (1H, d), 8,06 (1H, d), 10,20 (1H, s).	494
42		<i>N</i> -(1-(3-Фторпропил)азетидин-3-ил)-5-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-6-ил)пирозин-2-амин	¹ H ЯМР (300 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆ , 27 °C) 1,11 (3H, d), 1,49 - 1,80 (2H, m), 2,42 - 2,48 (2H, m), 2,76 - 2,93 (3H, m), 2,93 - 3,21 (2H, m), 3,42 - 3,69 (4H, m), 4,23 - 4,34 (1H, m), 4,45 (2H, dt), 4,99 (1H, s), 6,85 (1H, d), 7,25 (1H, d), 7,42 (1H, d), 7,78 (1H, d), 7,82 (1H, d), 8,06 (1H, s), 12,98 (1H, s).	478

43		6-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-7-(2,2-Дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)- <i>N</i> -(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)- <i>N</i> -метилпиридин-3-амин	¹ H ЯМР (300 МГц, DMSO-d ₆ , 27 °C) 1,06 (3H, d), 1,56 - 1,78 (2H, m), 2,42 - 2,48 (2H, m), 2,55 - 2,70 (1H, m), 2,81 (3H, s), 2,82 - 2,95 (3H, m), 2,96 - 3,23 (2H, m), 3,39 - 3,54 (1H, m), 3,57 - 3,69 (2H, m), 4,05 (1H, quin), 4,45 (2H, dt), 4,93 (1H, s), 5,88 (1H, tt), 6,77 (1H, d), 7,07 (2H, d), 7,21 (1H, d), 7,93 (1H, t), 8,05 (1H, s), 12,95 (1H, s).	473
44		6-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-7-(2,2-Дифторэтил)-6,8-диметил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)- <i>N</i> -(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)- <i>N</i> -метилпиридин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 1,20 (3H, d), 1,68 - 1,81 (3H, m), 1,87 (3H, s), 2,59 (2H, t), 2,89 (2H, d), 3,01 (2H, dd), 3,32 (1H, dd), 3,54 - 3,62 (1H, m), 3,68 - 3,75 (2H, m), 3,93 (1H, d), 4,07 (1H, q), 4,43 (1H, t), 4,53 (1H, t), 5,25 - 5,62 (1H, m), 6,68 (1H, dd), 7,01 (1H, d), 7,08 (1H, d), 7,20 (1H, d), 7,83 (1H, d), 8,06 (1H, s), 10,01 (1H, s).	473
45		<i>N</i> -(4-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-7-(2,2-Дифторэтил)-6,8-диметил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 1,14 (3H, d), 1,68 - 1,82 (2H, m), 1,85 (3H, s), 2,58 (2H, t), 2,78 - 2,99 (5H, m), 3,17 (1H, dd), 3,44 (3H, s), 3,49 - 3,60 (1H, m), 3,66 - 3,78 (2H, m), 3,89 (1H, d), 4,03 - 4,14 (1H, m), 4,48 (2H, dt), 5,26 - 5,54 (1H, m), 5,97 (1H, dd), 6,03 (1H, d), 6,82	502

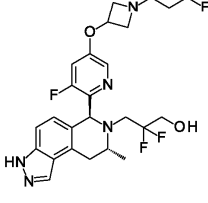
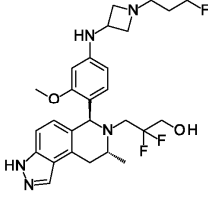
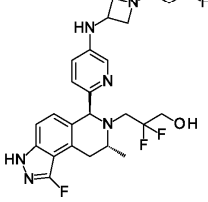
			(1H, d), 7,00 (1H, d), 7,17 (1H, d), 8,06 (1H, d), 9,95 (1H, s).	
46		6-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-7-(2,2-Дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-5-фтор- <i>N</i> -(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 1,14 (3H, d), 1,66 - 1,82 (2H, m), 2,59 (2H, t), 2,72 - 2,80 (1H, m), 2,85 (1H, dd), 2,90 (2H, d), 2,98 - 3,12 (1H, m), 3,24 (1H, dd), 3,49 (1H, d), 3,64 - 3,73 (2H, m), 3,98 - 4,08 (1H, m), 4,16 (1H, d), 4,43 (1H, t), 4,53 (1H, t), 5,28 (1H, s), 5,58 - 5,89 (1H, m), 6,52 (1H, dd), 6,82 (1H, d), 7,19 (1H, d), 7,64 - 7,69 (1H, m), 8,05 (1H, s), 10,04 (1H, s).	477
47		6-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-7-(2,2-Дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-2-фтор- <i>N</i> -(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 1,12 (3H, d), 1,67 - 1,81 (2H, m), 2,59 (2H, t), 2,79 (1H, dddd), 2,86 - 2,93 (2H, m), 3,04 (1H, ddd), 3,33 (1H, dd), 3,53 - 3,62 (1H, m), 3,69 - 3,79 (2H, m), 4,06 (1H, q), 4,21 (1H, d), 4,44 (1H, t), 4,53 (1H, t), 4,89 (1H, s), 5,48 - 5,76 (1H, m), 6,75 (1H, dd), 6,93 (1H, d), 6,98 (1H, d), 7,19 (1H, d), 8,05 (1H, s), 9,99 (1H, s).	477
48		<i>N</i> -(4-((6 <i>R</i> ,8 <i>R</i>)-7-(2,2-Дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆ , 27 °C) 0,96 (3H, d), 1,52 - 1,64 (2H, m), 2,49 - 2,61 (1H, m), 2,63 - 2,78 (3H, m), 2,88 - 3,02 (2H, m), 3,26 - 3,31 (1H, m), 3,53 - 3,64	458

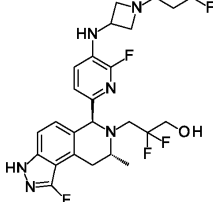
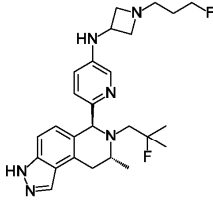
		фторпропил)азетидин-3-амин	(2H, m), 3,80 - 3,87 (1H, m), 4,38 (2H, dt), 4,74 (1H, s), 5,76 (1H, tt), 5,88 - 5,93 (1H, m), 6,33 (2H, d), 6,70 (1H, d), 6,80 (2H, d), 7,17 (1H, d), 7,98 (1H, s), 12,91 (1H, s). (два пика, соответствующих атому водорода, не наблюдали).	
49		<i>N</i> -(4-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-6-ил)-3,5-дифторфенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆ , 27 °C) 0,95 (3H, d), 1,58 - 1,70 (2H, m), 2,50 - 2,70 (3H, m), 2,79 (1H, br dd), 2,86 - 2,97 (1H, m), 2,95 - 3,12 (2H, m), 3,09 (1H, br dd), 3,33 - 3,45 (1H, m), 3,71 - 3,88 (2H, m), 3,88 - 4,01 (1H, m), 4,38 (2H, dt), 5,03 (1H, s), 5,70 (1H, tt), 6,03 (2H, br d), 6,63 (1H, d), 6,69 (1H, br d), 7,13 (1H, d), 7,96 (1H, s), 12,89 (1H, s)	494
50		5-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-6-ил)- <i>N</i> -(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиразин-2-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆ , 27 °C) 1,06 (3H, d), 1,56 - 1,70 (2H, m), 2,42 - 2,47 (2H, m), 2,57 - 2,69 (1H, m), 2,75 - 2,87 (3H, m), 2,99 - 3,13 (2H, m), 3,43 - 3,51 (1H, m), 3,54 - 3,62 (2H, m), 4,29 (1H, sxt), 4,43 (2H, dt), 4,94 (1H, s), 5,97 (1H, tt), 6,79 (1H, d), 7,22 (1H, d), 7,41 (1H, d), 7,77 (1H, d), 7,84 (1H, d), 8,04 (1H, s), 12,97 (1H, s)	460

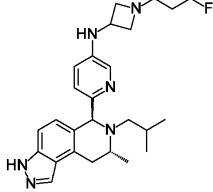
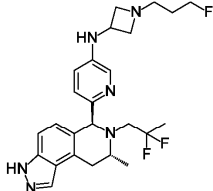
51		6-((6 <i>S</i> ,8 <i>S</i>)-7-(2,2-Дифторэтил)-8-(дифторметил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-6-ил)- <i>N</i> -(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 1,68 - 1,86 (2H, m), 2,63 (2H, dd), 2,98 (2H, dd), 3,00 - 3,07 (1H, m), 3,20 (1H, dd), 3,28 - 3,44 (2H, m), 3,70 (3H, q), 4,10 (1H, dh), 4,43 (2H, t), 4,52 (1H, t), 5,19 (1H, s), 5,43 (1H, tdd), 5,81 (1H, td), 6,77 (1H, dd), 6,84 (1H, d), 7,09 (2H, t), 7,86 (1H, d), 8,00 - 8,02 (1H, m).	495
52		<i>N</i> -(4-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-7-((1-Фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)- <i>N</i> -метилазетидин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 0,46 - 0,62 (2H, m), 0,85 - 1,03 (2H, m), 1,10 (3H, d), 1,66 - 1,89 (2H, m), 2,56 - 2,62 (2H, m), 2,64 (1H, d), 2,80 (3H, s), 2,89 (1H, dd), 2,98 (2H, dt), 3,09 (1H, dd), 3,33 (1H, dd), 3,73 (2H, q), 3,80 (1H, q), 3,87 (3H, s), 4,08 (1H, p), 4,44 (1H, t), 4,53 (1H, t), 5,37 (1H, s), 6,13 (1H, dd), 6,26 (1H, d), 6,79 (2H, t), 7,07 (1H, d), 8,05 (1H, s), 10,53 (1H, s).	510
53		<i>N</i> -(2-Фтор-4-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-6-ил)-5-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 0,46 - 0,52 (2H, m), 0,92 - 1,01 (2H, m), 1,08 (3H, d), 1,71 - 1,83 (2H, m), 2,55 - 2,64 (3H, m), 2,84 - 2,93 (3H, m), 3,02 - 3,11 (1H, m), 3,35 - 3,42 (1H, m), 3,77 - 3,89 (6H, m), 4,03 - 4,09 (1H, m), 4,12 - 4,18 (1H, m), 4,50 (2H, dt),	514

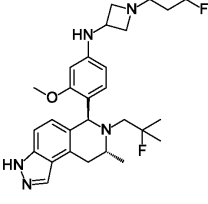
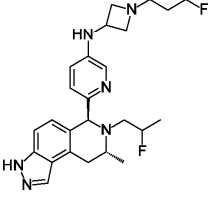
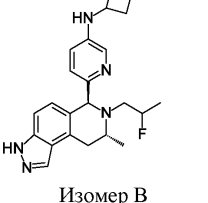
			5,30 (1H, s), 6,13 (1H, d), 6,65 (1H, d), 6,80 (1H, d), 7,12 (1H, d), 8,05 (1H, s), 9,97 (1H, s).	
54		5-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-7-((1-Фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-6-ил)- <i>N</i> -(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-2-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 0,47 - 0,61 (2H, m), 1,04 (2H, d), 1,09 (3H, d), 1,66 - 1,81 (2H, m), 2,59 (2H, t), 2,72 (1H, dd), 2,84 (1H, dd), 2,92 (2H, td), 3,01 (1H, dd), 3,14 (1H, dd), 3,51 - 3,61 (1H, m), 3,68 - 3,83 (2H, m), 4,39 (1H, q), 4,43 (1H, t), 4,52 (1H, t), 4,92 (1H, d), 4,96 (1H, s), 6,29 (1H, d), 6,88 (1H, d), 7,17 (1H, d), 7,40 (1H, dd), 7,82 (1H, d), 8,04 (1H, d), 11,07 (1H, s).	467
55		5-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-7-((1-Фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-6-ил)- <i>N</i> -(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиразин-2-амин	¹ H ЯМР (300 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆ , 27 °C) 0,47 - 0,63 (1H, m), 0,67 - 0,80 (1H, m), 0,81 - 1,01 (2H, m), 1,04 (3H, d), 1,49 - 1,78 (2H, m), 2,45 (2H, t), 2,57 - 2,94 (4H, m), 2,96 - 3,23 (2H, m), 3,47 - 3,71 (3H, m), 4,22 - 4,34 (1H, m), 4,44 (2H, dt), 4,92 (1H, s), 6,82 (1H, d), 7,22 (1H, d), 7,35 (1H, d), 7,78 (1H, d), 7,82 (1H, d), 8,05 (1H, d), 12,94 (1H, br d).	468

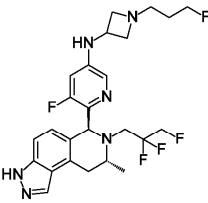
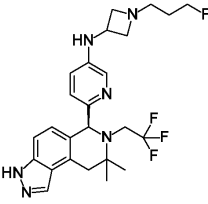
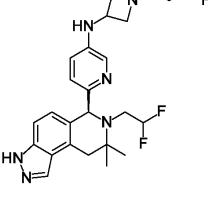
56		<i>N</i> -(4-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-7-((1-Фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3,3,3-трифторпропил)азетидин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 0,48 - 0,55 (2H, m), 0,90 - 0,98 (2H, m), 1,09 (3H, d), 2,10 - 2,21 (2H, m), 2,57 - 2,72 (3H, m), 2,85 - 2,92 (3H, m), 3,07 (1H, dd), 3,34 (1H, dd), 3,71 - 3,82 (3H, m), 3,86 (3H, s), 4,07 - 4,14 (1H, m), 5,33 (1H, s), 5,96 (1H, dd), 6,11 (1H, d), 6,75 (1H, d), 6,81 (1H, d), 7,11 (1H, d), 8,05 (1H, d), 10,00 (1H, s).	532
57		6-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-7-((1-Фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-6-ил)- <i>N</i> -(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)- <i>N</i> -метилпиридин-3-амин	¹ H ЯМР (300 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆ , 27 °C) 0,40 - 0,57 (1H, m), 0,61 - 0,77 (1H, m), 0,78 - 1,00 (2H, m), 1,02 (3H, d), 1,57 - 1,75 (2H, m), 2,42 - 2,48 (2H, m), 2,66 (1H, dd), 2,80 (3H, s), 2,83 - 2,93 (3H, m), 3,00 (1H, dd), 3,19 (1H, br dd), 3,57 - 3,71 (3H, m), 4,04 (1H, quin), 4,45 (2H, dt), 4,88 (1H, s), 6,80 (1H, d), 7,01 - 7,10 (2H, m), 7,19 (1H, d), 7,93 (1H, d), 8,04 (1H, s), 12,93 (1H, s).	481
58		2,2-Дифтор-3-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-6-(5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)пиридин-2-ил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-7-	¹ H ЯМР (500 МГц, DMSO, 27 °C) 1,06 (3H, d), 1,65 (2H, dq), 2,61 - 2,71 (1H, m), 2,82 (1H, dd), 2,94 (2H, dd), 3,00 (1H, dd), 3,11 - 3,21 (1H, m), 3,36 - 3,42 (1H, m), 3,64 - 3,74 (4H, m), 4,39 (1H, t), 4,48 (1H, t), 4,80 (1H, p),	490

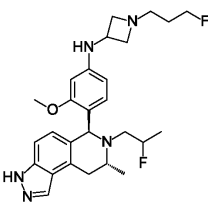
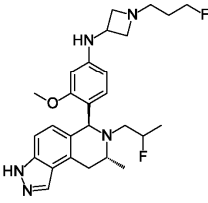
		ил)пропан-1-ол	5,04 (1H, s), 5,39 (1H, t), 6,84 (1H, d), 7,17 - 7,26 (3H, m), 8,02 - 8,07 (2H, m), 12,97 (1H, s).	
59		2,2-Дифтор-3-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-6-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)пиридин-2-ил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7Н-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-7-ил)пропан-1-ол	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 1,17 (3H, d), 1,71 - 1,82 (2H, m), 2,65 (2H, t), 2,79 - 2,95 (3H, m), 3,11 - 3,18 (2H, m), 3,19 - 3,28 (1H, m), 3,33 (1H, dd), 3,68 (1H, td), 3,84 (4H, ddt), 4,44 (1H, t), 4,53 (1H, t), 4,79 (1H, p), 5,39 (1H, s), 6,75 (1H, d), 6,86 (1H, dd), 7,20 (1H, d), 7,94 (1H, d), 8,06 (1H, d).	508
60		2,2-Дифтор-3-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-6-(4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)-2-метоксифенил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7Н-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-7-ил)пропан-1-ол	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 1,13 (3H, d), 1,39 (1H, h), 1,68 - 1,83 (2H, m), 2,59 (2H, t), 2,82 - 2,99 (4H, m), 3,13 (1H, dt), 3,24 (1H, dd), 3,30 - 3,39 (1H, m), 3,56 - 3,86 (8H, m), 4,09 (1H, p), 4,44 (1H, t), 4,53 (1H, t), 5,28 (1H, s), 5,98 (1H, dd), 6,11 (1H, d), 6,59 (1H, d), 6,76 (1H, d), 7,16 (1H, d), 8,04 (1H, d).	518
61		2,2-Дифтор-3-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-1-фтор-6-(5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)пиридин-2-ил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7Н-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-7-ил)пропан-1-ол	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 1,15 (3H, d), 1,66 - 1,88 (2H, m), 2,62 (2H, t), 2,88 (1H, dd), 2,92 - 3,02 (3H, m), 3,14 (1H, dd), 3,22 (1H, td), 3,37 (1H, ddd), 3,67 - 3,73 (2H, m), 3,76 (1H, td), 3,97 - 4,15 (2H, m), 4,31	507

		ил)пропан-1-ол	(1H, d), 4,44 (1H, t), 4,53 (1H, t), 5,11 (1H, s), 6,72 (1H, dd), 6,79 (1H, d), 6,87 (1H, d), 7,01 (1H, d), 7,93 (1H, d), 10,19 (1H, s).	
62		2,2-Дифтор-3-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-1-фтор-6-(6-фтор-5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)пиридин-2-ил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-7H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-7-ил)пропан-1-ол	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 1,17 (3H, d), 1,68 - 1,84 (2H, m), 2,62 (2H, t), 2,88 (1H, dd), 2,92 - 2,97 (3H, m), 3,08 - 3,16 (1H, m), 3,16 - 3,27 (1H, m), 3,35 - 3,44 (1H, m), 3,71 - 3,78 (2H, m), 3,83 (1H, td), 3,93 - 4,14 (2H, m), 4,38 (1H, d), 4,44 (1H, t), 4,53 (1H, t), 5,03 (1H, s), 6,59 - 6,79 (2H, m), 6,92 (1H, d), 7,09 (1H, dd), 10,06 (1H, s).	525
63		6-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-7-(2-Фтор-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-6-ил)- <i>N</i> -(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆ , 27 °C) 0,94 (3H, d), 1,13 - 1,27 (6H, m), 1,51 - 1,67 (2H, m), 2,23 - 2,34 (1H, m), 2,61 - 2,77 (4H, m), 2,97 (1H, br dd), 3,40 - 3,48 (1H, m), 3,50 - 3,65 (2H, m), 3,81 - 3,93 (1H, m), 4,38 (2H, dt), 4,80 (1H, s), 6,11 (1H, br d), 6,69 - 6,78 (2H, m), 6,95 (1H, d), 7,12 (1H, d), 7,66 (1H, d), 7,96 (1H, s), 12,86 (1H, s). (два пика, соответствующих атому водорода, не наблюдали).	469

			d), 6,42 (1H, d), 6,65 (1H, d), 7,16 (1H, d), 8,02 (1H, s), 12,93 (1H, s)	
69	 <i>N</i>-(1-(3-Фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6<i>S</i>,8<i>R</i>)-7-изобутил-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-<i>f</i>]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин		¹ H ЯМР (300 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆ , 27 °C) 0,73 (3H, d), 0,81 (3H, d), 0,97 (3H, d), 1,51 - 1,81 (3H, m), 1,99 (1H, dd), 2,34 (1H, dd), 2,42 - 2,48 (2H, m), 2,74 (2H, td), 2,85 (1H, dd), 3,09 - 3,22 (1H, m), 3,37 - 3,54 (1H, m), 3,56 - 3,71 (2H, m), 3,93 (1H, sxt), 4,45 (2H, dt), 4,69 (1H, s), 6,12 (1H, d), 6,72 - 6,84 (2H, m), 6,94 (1H, d), 7,16 (1H, d), 7,75 (1H, d), 8,03 (1H, s), 12,90 (1H, s).	451
70	 6-((6<i>S</i>,8<i>R</i>)-7-(2,2-Дифторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-<i>f</i>]изохинолин-6-ил)-<i>N</i>-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин		¹ H ЯМР (300 МГц, DMSO- <i>d</i> ₆ , 27 °C) 1,07 (3H, d), 1,58 (3H, br t), 1,80 - 2,05 (2H, m), 2,53 - 2,72 (1H, m), 2,86 (1H, br dd), 2,98 - 3,27 (3H, m), 3,43 - 3,54 (1H, m), 3,87 (1H, br s), 4,06 (1H, br d), 4,22 - 4,50 (3H, m), 4,52 - 4,65 (2H, m), 4,99 (1H, br s), 6,56 (1H, br s), 6,80 (1H, d), 6,86 - 7,20 (2H, m), 7,24 (1H, br d), 7,73 - 7,88 (1H, m), 8,08 (1H, s), 9,54 - 10,04 (1H, m), 12,99 (1H, br s)	473

64		N-(4-((6S,8R)-7-(2-Фторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27°C) 1,05 (3H, d), 1,26 (6H, dd), 1,74 (2H, ddd), 2,37 (1H, dd), 2,54 - 2,64 (2H, m), 2,71 - 2,9 (4H, m), 3,26 (1H, d), 3,73 (3H, d), 3,84 (3H, s), 3,93 (1H, s), 4,10 (1H, s), 4,43 (1H, t), 4,53 (1H, t), 5,30 (1H, s), 5,94 (1H, dd), 6,11 (1H, d), 6,67 (1H, d), 6,80 (1H, d), 7,11 (1H, d), 8,04 (1H, d), 10,06 (1H, s).	498
65	 Измер А	6-((6S,8R)-7-(2-Фторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, DMSO-d ₆ , 27 °C) 1,00 (3H, d), 1,22 (3H, dd), 1,59 - 1,70 (2H, m), 2,65 - 2,86 (4H, m), 3,14 (1H, br dd), 3,48 (1H, sxt), 3,59 - 3,73 (2H, br m), 3,94 (1H, sxt), 4,44 (2H, dt), 4,60 (1H, br dsxt), 4,79 (1H, s), 6,19 (1H, br d), 6,74 (1H, d), 6,78 (1H, dd), 6,93 (1H, d), 7,16 (1H, d), 7,74 (1H, d), 8,03 (1H, s), 12,93 (1H, s). (Мультиплет, соответствующий трем атомам водорода, перекрыт DMSO).	455
66	 Измер В	6-((6S,8R)-7-(2-Фторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, DMSO-d ₆ , 27 °C) 1,00 (3H, d), 1,13 (3H, dd), 1,56 - 1,70 (2H, m), 2,28 - 2,41 (1H, m), 2,45 (2H, t), 2,72 (2H, q), 2,77 - 2,87 (2H, m), 3,13 (1H, br dd), 3,46 (1H, sxt), 3,56 - 3,66 (2H, m), 3,92	455

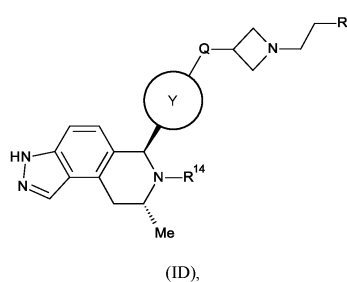
71		5-Фтор-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-8-метил-7-(2,2,3-трифторпропил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, DMSO, 27 °C) 1,04 (3H, d), 1,64 (2H, dq), 2,44 (2H, t), 2,66 - 2,84 (4H, m), 2,97 (1H, dd), 3,15 - 3,26 (1H, m), 3,56 - 3,64 (3H, m), 3,94 (1H, h), 4,39 (1H, t), 4,48 (1H, t), 4,56 - 4,82 (2H, m), 5,19 (1H, s), 6,61 (1H, d), 6,66 - 6,73 (2H, m), 7,20 (1H, d), 7,55 (1H, dd), 8,04 (1H, s), 12,95 (1H, s).	509
72		(<i>S</i>)-6-(8,8-Диметил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 1,06 (3H, s), 1,41 (3H, s), 1,66 - 1,83 (2H, m), 2,61 (2H, t), 2,93 (3H, dt), 3,13 - 3,36 (2H, m), 3,36 - 3,56 (1H, m), 3,71 (2H, q), 4,10 (2H, d), 4,44 (1H, t), 4,53 (1H, t), 4,98 (1H, s), 6,72 (1H, dd), 6,77 (1H, d), 6,98 (1H, d), 7,11 (1H, d), 7,83 (1H, d), 8,04 (1H, d), 10,72 (1H, s).	491
73		(<i>S</i>)-6-(7-(2,2-Дифторэтил)-8,8-диметил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3- <i>f</i>]изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин	¹ H ЯМР (500 МГц, CDCl ₃ , 27 °C) 1,04 (3H, s), 1,41 (3H, s), 2,85 - 2,95 (6H, m), 3,21 (2H, t), 3,21 - 3,35 (2H, m), 3,52 (2H, t), 4,01 (2H, q), 4,44 (1H, t), 4,55 (1H, t), 4,82 (1H, dt), 4,96 (1H, s), 6,72 (1H, dd), 7,07 (1H, dd), 7,09 - 7,13 (2H, m), 8,04 (1H, s), 8,20 (1H, s), 10,65 (1H, s).	473

		амин	(1H, sxt), 4,44 (2H, dt), 4,55 - 4,72 (1H, m), 4,77 (1H, s), 6,18 (1H, d), 6,73 (1H, d), 6,79 (1H, dd), 6,93 (1H, d), 7,16 (1H, d), 7,75 (1H, d), 8,02 (1H, s), 12,92 (1H, s)	
67	 Измер А	1-(3-Фторпропил)-N-(4-((6S,8R)-7-(2-фторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)азетидин-3-амин	¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆ , 27 °C) 1,01 (3H, d), 1,29 (3H, dd), 1,56 - 1,76 (2H, m), 2,43 - 2,49 (1H, m), 2,57 - 2,66 (1H, m), 2,69 - 2,89 (3H, m), 3,06 (1H, br dd), 3,35 - 3,42 (1H, m), 3,63 - 3,74 (2H, m), 3,81 (3H, s), 3,89 - 3,99 (1H, m), 4,45 (2H, dt), 4,70 - 4,91 (1H, m), 5,17 (1H, s), 5,88 (1H, dd), 6,00 (1H, br d), 6,18 (1H, d), 6,32 (1H, d), 6,69 (1H, d), 7,19 (1H, d), 8,03 (1H, s), 12,93 (1H, s). (Мультиплет, соответствующий двум атомам водорода, перекрыт DMSO).	484
68	 Измер В	1-(3-Фторпропил)-N-(4-((6S,8R)-7-(2-фторпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)азетидин-3-амин	¹ H ЯМР (400 МГц, DMSO-d ₆ , 27 °C) 1,00 (3H, d), 1,14 (3H, dd), 1,57 - 1,73 (2H, m), 2,20 - 2,33 (1H, m), 2,42 - 2,48 (2H, m), 2,68 - 2,83 (4H, m), 3,11 (1H, br dd), 3,37 - 3,47 (1H, m), 3,59 - 3,66 (2H, m), 3,81 (3H, s), 3,92 (1H, sxt), 4,45 (2H, dt), 4,63 - 4,84 (1H, m), 5,14 (1H, s), 5,91 (1H, dd), 5,98 (1H, d), 6,18 (1H,	484

Вышеизложенное описание иллюстративных вариантов осуществления предназначено только для ознакомления других специалистов в данной области техники с описанием, созданным авторами настоящего изобретения, его принципами и его практическим применением, таким образом, чтобы другие специалисты в данной области техники смогли легко адаптировать и применить данное описание в его многочисленных формах, поскольку они могут лучше всего подходить для потребностей конкретного применения. Данное описание и его конкретные примеры, иллюстрирующие варианты осуществления данного описания, предназначены только для иллюстративных целей. Следовательно, данное описание не ограничено иллюстративными вариантами осуществления, описанными в данном документе, и его можно модифицировать различными способами. Кроме того, следует понимать, что различные признаки данного описания, которые для ясности описаны в контексте отдельных вариантов осуществления, также можно комбинировать с образованием одного варианта осуществления. И наоборот, различные признаки данного описания, которые для краткости описаны в контексте одного варианта осуществления, также можно комбинировать с образованием их подкомбинаций.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

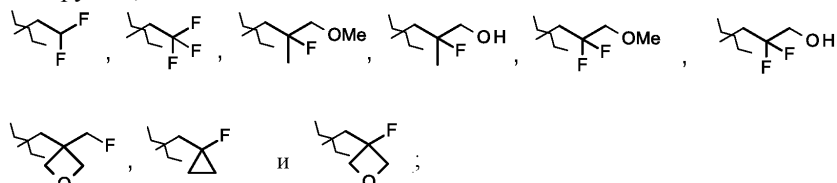
1. Соединение формулы (ID)



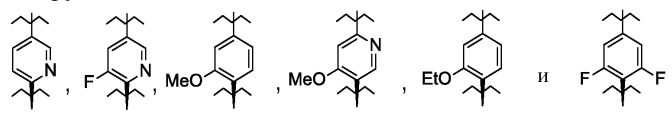
где Q представляет собой O или NH;

R¹ представляет собой CH₂F или CHF₂;

R¹⁴ выбран из группы, состоящей из:



кольцо Y выбрано из группы, состоящей из:



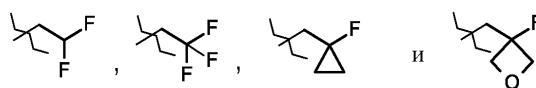
или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, где Q представляет собой NH.

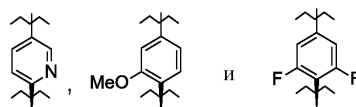
3. Соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, где Q представляет собой O.

4. Соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль по любому из предыдущих пунктов, где R¹ представляет собой CH₂F.

5. Соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль по любому из предыдущих пунктов, где R¹⁴ выбран из группы, состоящей из:



6. Соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль по любому из предыдущих пунктов, где кольцо Y выбрано из группы, состоящей из:



7. Соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, где соединение выбрано из группы, состоящей из:

N-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]-изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;

6-((6S,8R)-7-(2,2-дифтор-3-метоксипропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]-изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин;

6-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]-изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин;

N-(4-((6S,8R)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]-изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;

3-((6S,8R)-6-(2,6-дифтор-4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)фенил)-8-метил-3,6,8,9-тетрагидро-7H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)-2,2-дифторпропан-1-ол;

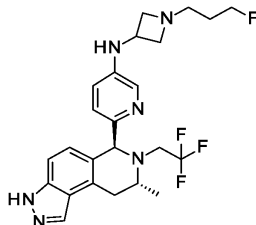
N-(4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]-изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;

(6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-6-(4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)-2-метоксифенил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолина;

N-(3,5-дифтор-4-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]-

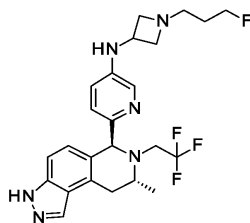
изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;
 5-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]-
 изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-4-метоксипиридин-2-амин;
 N-(4-((6S,8R)-7-((3-(фторметил)оксетан-3-ил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]-
 изохинолин-6-ил)-3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;
 N-(3,5-дифтор-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-
 пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;
 (6S,8R)-7-(2-фтор-3-метокси-2-метилпропил)-6-(4-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-илокси)-2-
 метоксифенил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолина;
 2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)пиридин-2-ил)-8-метил-3,6,8,9-
 тетрагидро-7Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)пропан-1-ол;
 N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-
 3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин;
 5-фтор-6-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]-
 изохинолин-6-ил)-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин;
 N-(3-этокси-4-((6S,8R)-7-((1-фторциклопропил)метил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-
 f]изохинолин-6-ил)фенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;
 N-(4-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-
 3-метоксифенил)-1-(3-фторпропил)азетидин-3-амин;
 (6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-6-(4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)-2-метоксифенил)-8-метил-
 6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолина;
 3-((6S,8R)-6-(2,6-дифтор-4-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-иламино)фенил)-8-метил-8,9-дигидро-3Н-
 пиразоло[4,3-f]изохинолин-7(6Н)-ил)-2-фтор-2-метилпропан-1-ол;
 6-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-N-
 (1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин;
 (6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-6-(5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)пиридин-2-ил)-8-метил-
 6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолина;
 1-(3-фторпропил)-N-(3-метокси-4-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-
 пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)фенил)азетидин-3-амин;
 5-фтор-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-
 тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин;
 2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(3-фтор-5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)пиридин-2-ил)-8-метил-
 3,6,8,9-тетрагидро-7Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)пропан-1-ол;
 6-((6S,8R)-7-(2,2-дифторэтил)-8-метил-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)-5-
 фтор-N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)пиридин-3-амин;
 2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)пиридин-2-ил)-8-метил-3,6,8,9-
 тетрагидро-7Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)пропан-1-ол;
 2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(3-фтор-5-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)окси)пиридин-2-ил)-8-метил-
 3,6,8,9-тетрагидро-7Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)пропан-1-ол и
 2,2-дифтор-3-((6S,8R)-6-(4-((1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)амино)-2-метоксифенил)-8-метил-
 3,6,8,9-тетрагидро-7Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-7-ил)пропан-1-ол.

8. Соединение формулы (ID) или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, где соединение представляет собой N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин:



или его фармацевтически приемлемая соль.

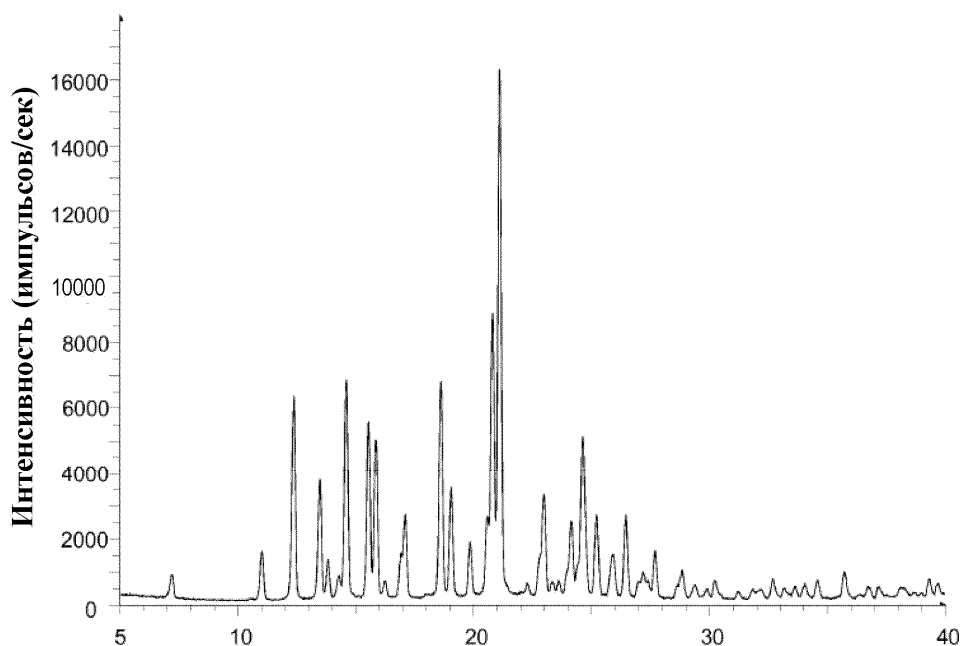
9. Соединение формулы (ID) по п.1, где соединение представляет собой N-(1-(3-фторпропил)-азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-f]-изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин:



10. Применение соединения или его фармацевтически приемлемой соли по п.8 для предупреждения или лечения рака у теплокровного животного.

11. Применение по п.10, где рак представляет собой рак молочной железы или гинекологический рак.

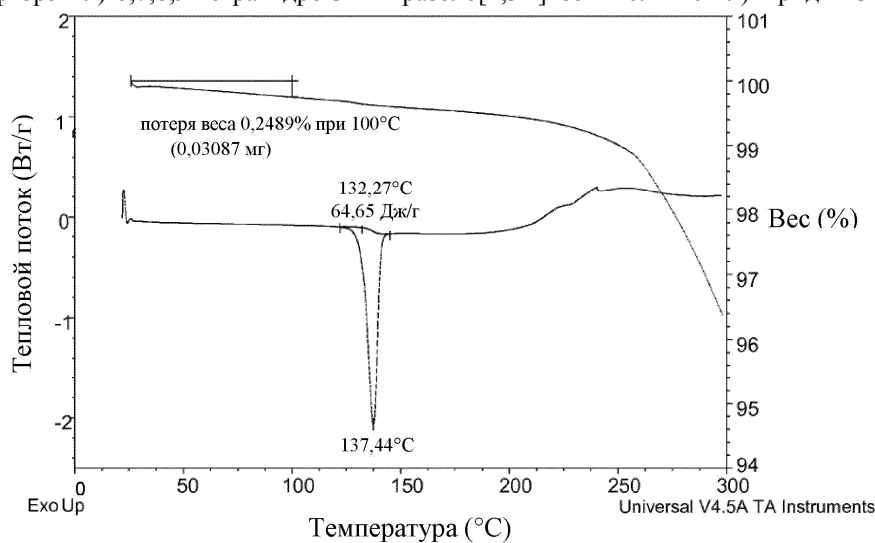
Порошковая рентгенограмма для формы А N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин



2-Тета-шкала

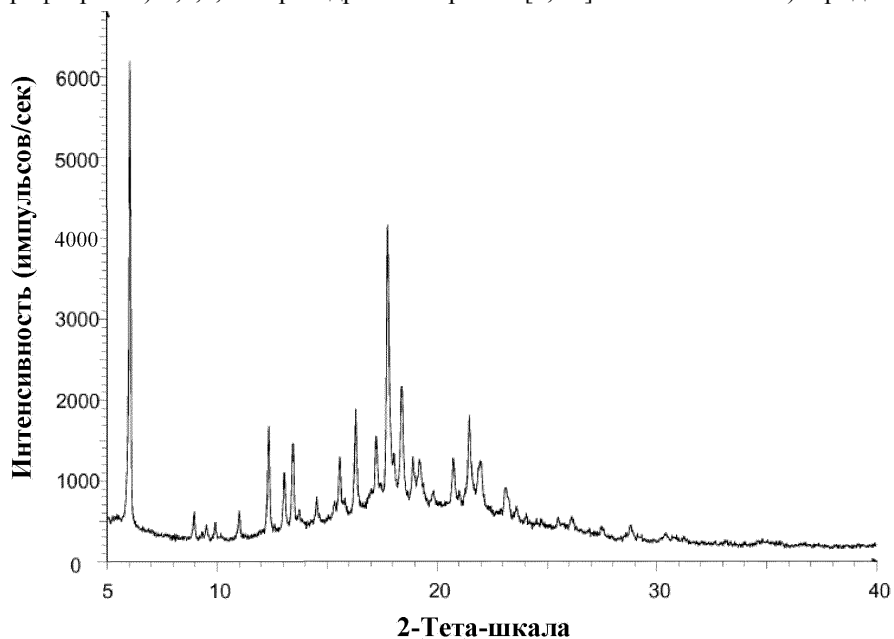
Фиг. 1

Термограмма DSC/TGA для формы А N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3Н-пиразоло[4,3-*f*]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин



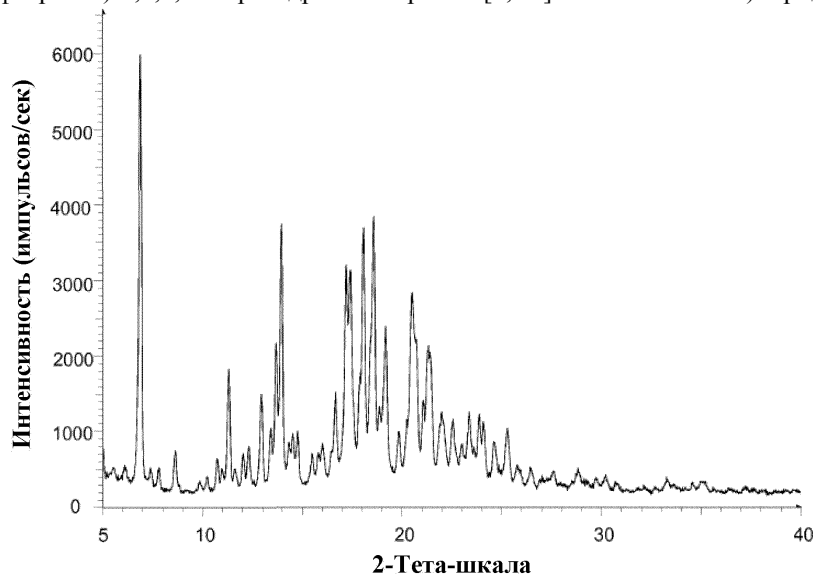
Фиг. 2

Порошковая рентгенограмма для формы В N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин



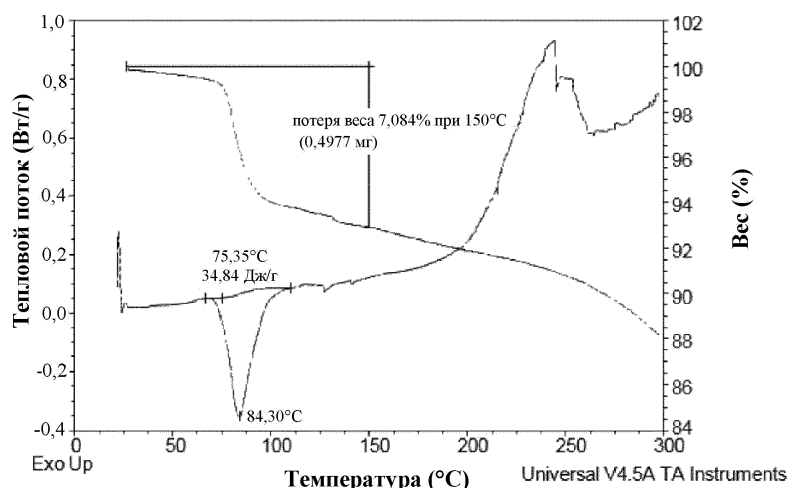
Фиг. 3

Порошковая рентгенограмма для формы С N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин



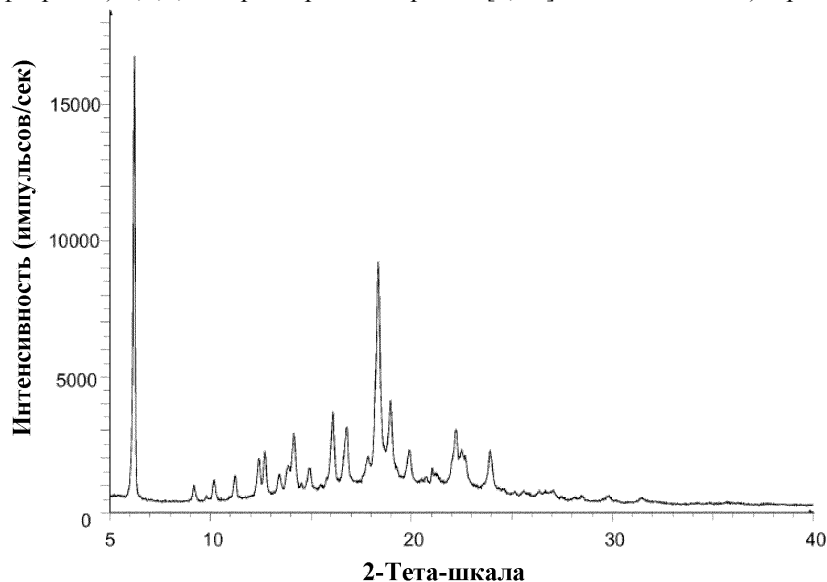
Фиг. 4

Термограмма DSC/TGA для формы С N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амина



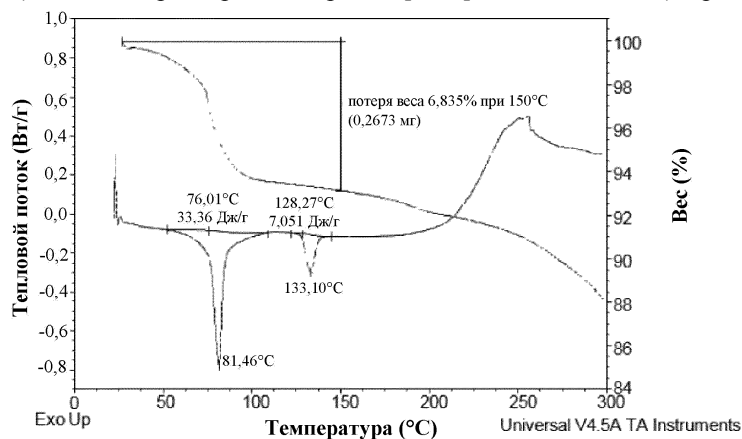
Фиг. 5

Порошковая рентгенограмма для формы D N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амина



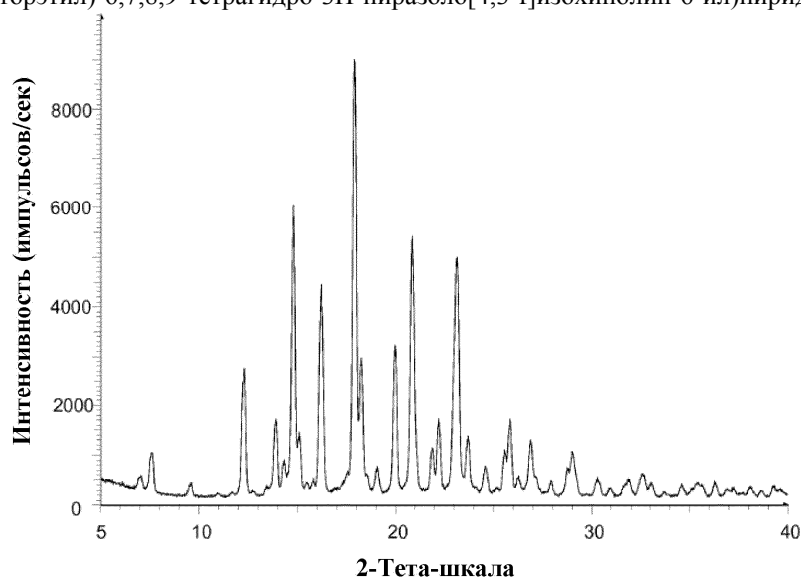
Фиг. 6

Термограмма DSC/TGA для формы D N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амина



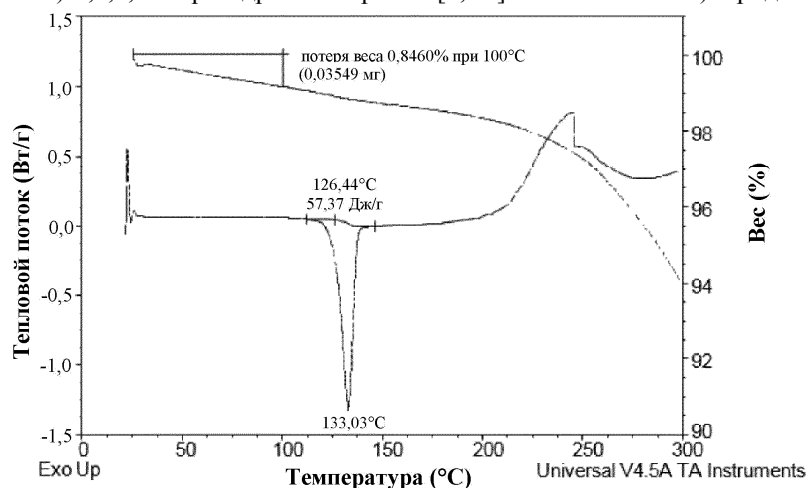
Фиг. 7

Порошковая рентгенограмма для формы E N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин



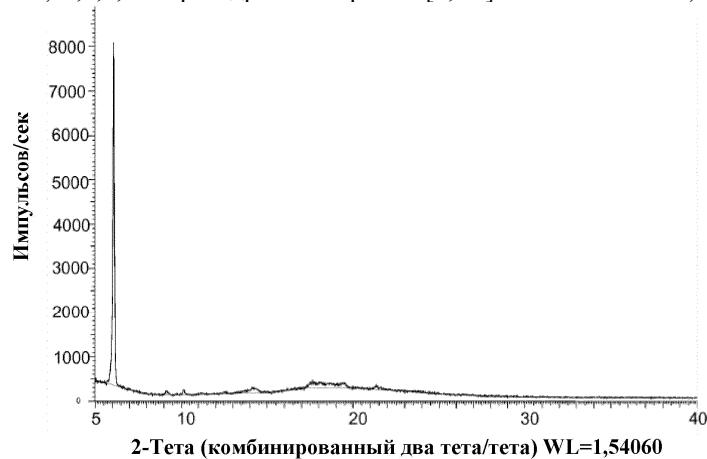
Фиг. 8

Термограмма DSC/TGA для формы E N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин



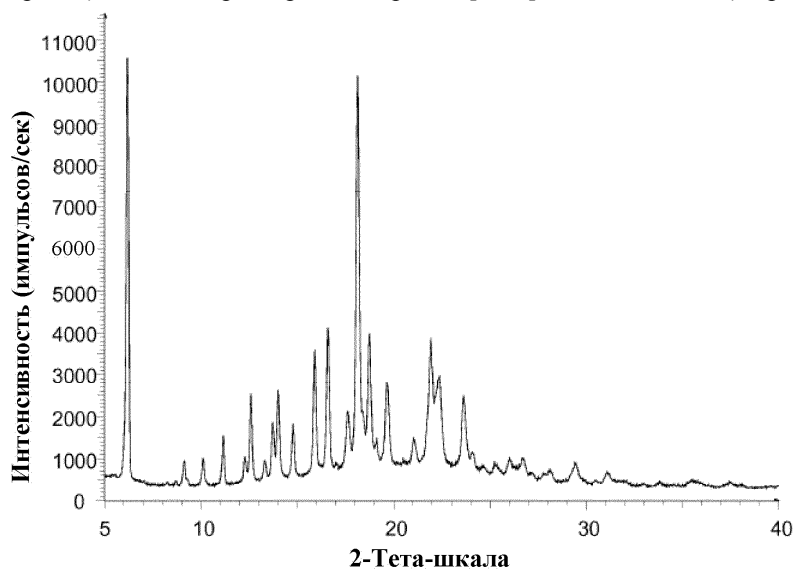
Фиг. 9

Порошковая рентгенограмма для формы F N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин



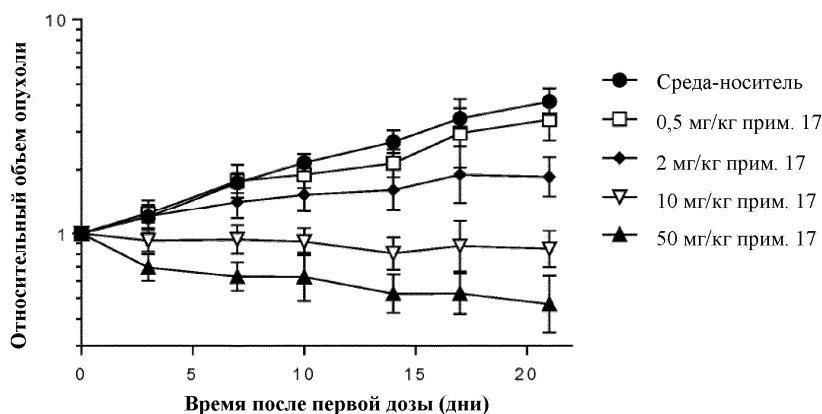
Фиг. 10

Порошковая рентгенограмма для формы G N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амина



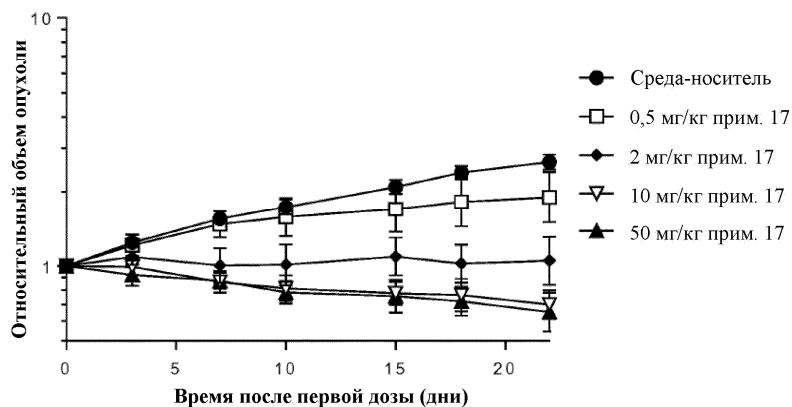
Фиг. 11

Исследование на мышинной модели противоопухолевой эффективности N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амина в отношении ксенотрансплантата, представляющего собой исходную MCF7 человека



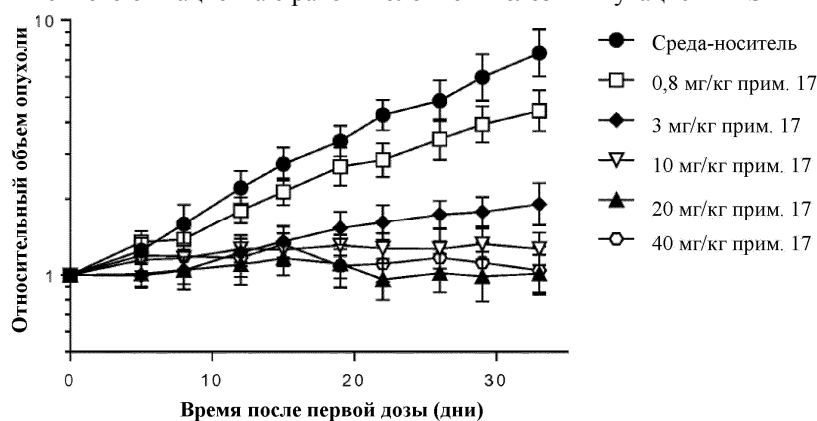
Фиг. 12

Исследование на мышинной модели противоопухолевой эффективности N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амина в отношении ксенотрансплантата человека, представляющего собой MCF7, с мутацией Y537S в ESR1



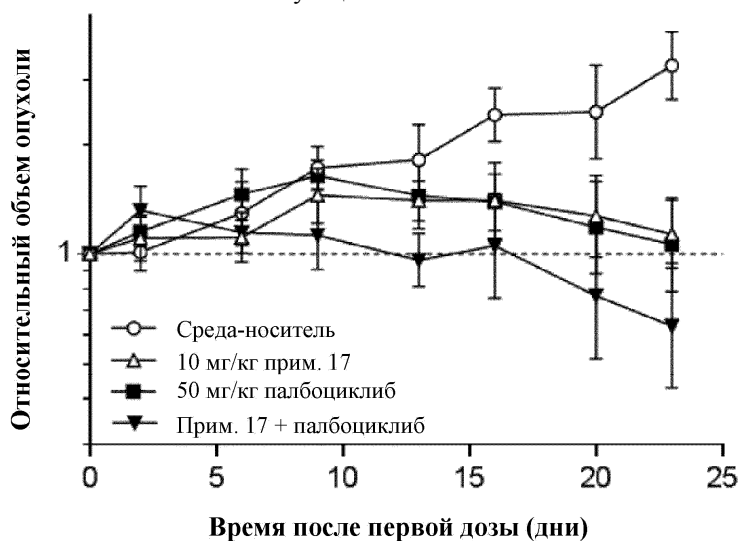
Фиг. 13

Исследование на мышинной модели противоопухолевой эффективности N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин в отношении ксенотрансплантата человека, представляющего собой CTC174, полученного от пациента с раком молочной железы и мутацией в ESR1



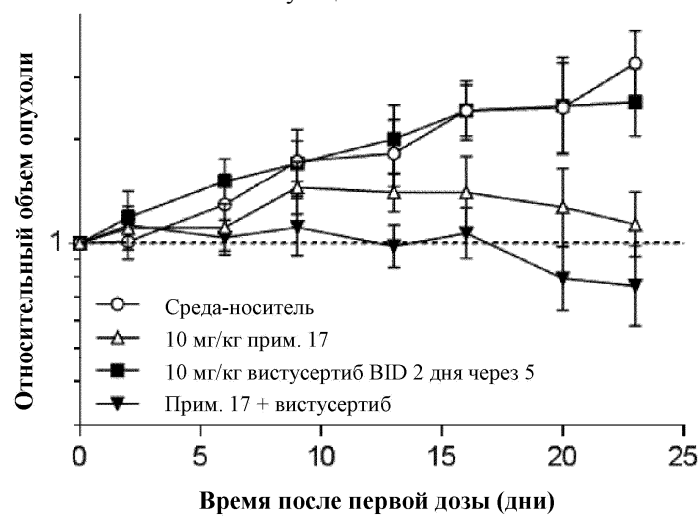
Фиг. 14

Исследование на мышинной модели противоопухолевой эффективности комбинации N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин и палбоциклиба в отношении ксенотрансплантата человека, представляющего собой CTC174, полученного от пациента с раком молочной железы и мутацией в ESR1



Фиг. 15

Исследование на мышинной модели противоопухолевой эффективности комбинации N-(1-(3-фторпропил)азетидин-3-ил)-6-((6S,8R)-8-метил-7-(2,2,2-трифторэтил)-6,7,8,9-тетрагидро-3H-пиразоло[4,3-f]изохинолин-6-ил)пиридин-3-амин и вистусертиба (AZD2014) в отношении ксенотрансплантата человека, представляющего собой CTC174, полученного от пациента с раком молочной железы и мутацией в ESR1



Фиг. 16



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2