

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202191361 (13) A1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2021.08.11(22) Дата подачи заявки  
2019.11.13(51) Int. Cl. *A61K 31/404* (2006.01)  
*A61K 45/06* (2006.01)  
*A61K 31/47* (2006.01)  
*A61P 11/00* (2006.01)

## (54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ МУКОВИСЦИДОЗА

(31) 62/767,202

(32) 2018.11.14

(33) US

(86) PCT/US2019/061171

(87) WO 2020/102346 2020.05.22

(71) Заявитель:

ВЕРТЕКС ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ  
ИНКОРПОРЕЙТЕД (US)

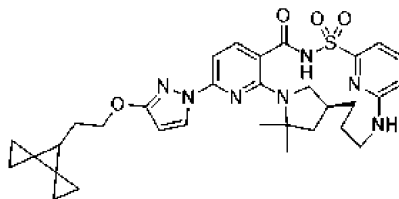
(72) Изобретатель:

Альтшулер Дэвид М., Андерсон Кори  
Дон, Чэнь Вэйчао Джордж, Клеменс  
Джереми Дж., Кливленд Томас, Кун  
Тимоти Ричард, Фримен Брайан (US),  
Груотенхейс Питер (умер), Адида  
Руа Сара Сабина, Хеа Брайн Дж.,  
Кевалрамани Решма, Маккартни  
Джейсон, Миллер Марк Томас,  
Параселли Прасуна, Пьер Фабрис,  
Робертсон Сара М., Сосней Патрик Р.,  
Свифт Сара И., Чжоу Цзинлань,  
Борек Баргломей, Ван Гор Фредрик,  
Юн Тим (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) В заявке описаны способы лечения муковисцидоза или заболевания, опосредованного CFTR, включающие введение соединения I или его фармацевтически приемлемой соли. В данной заявке также описаны фармацевтические композиции, содержащие соединение I или его фармацевтически приемлемую соль и необязательно содержащие одно или более дополнительных средств, модулирующих CFTR.



(I)

A1

202191361

202191361

A1

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-568759EA/055

### СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ МУКОВИСЦИДОЗА

[0001] Данная заявка испрашивает приоритет предварительной заявки на патент США 62/767202, поданной 14 ноября 2018 года, раскрытие которой включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[0002] В настоящем документе раскрывается модулятор регулятора трансмембранной проводимости при муковисцидозе (CFTR), фармацевтические композиции, содержащие этот модулятор, способы лечения муковисцидоза и способ изготовления модулятора.

[0003] Муковисцидоз (CF) представляет собой рецессивное генетическое заболевание, которым страдают примерно 70 000 детей и взрослых во всем мире. Несмотря на прогресс в лечении CF, способа излечения не существует.

[0004] У пациентов с CF мутации CFTR, эндогенно экспрессируемого в эпителии респираторного тракта, приводят к снижению апикальной секреции анионов, вызывая дисбаланс в транспорте ионов и жидкости. Возникающее в результате снижение транспорта анионов способствует усиленному накоплению слизи в легких и сопутствующим микробным инфекциям, которые в конечном итоге вызывают смерть пациентов с CF. Помимо респираторных заболеваний пациенты с CF обычно страдают от желудочно-кишечных проблем и недостаточности поджелудочной железы, которые, если их не лечить, приводят к смерти. Кроме того, большинство мужчин с муковисцидозом являются бесплодными, а у женщин с муковисцидозом фертильность снижена.

[0005] Анализ последовательности гена CFTR выявил множество мутаций, вызывающих заболевание (Cutting, G. R. et al. (1990) Nature 346:366-369; Dean, M. et al. (1990) Cell 61:863:870; и Kerem, B-S. et al. (1989) Science 245:1073-1080; Kerem, B-S et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:8447-8451). На сегодняшний день идентифицировано более 2000 мутаций в гене CF. Мутации CF перечислены в «Базе данных мутаций муковисцидоза», расположенной по адресу <http://www.genet.sickkids.on.ca/app>, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Наиболее распространенной мутацией, вызывающей заболевание, является делеция фенилаланина в положении 508 аминокислотной последовательности CFTR, которую обычно называют мутацией F508del. Эта мутация встречается примерно в 90% случаев муковисцидоза и связана с тяжелым заболеванием.

[0006] Делеция остатка 508 в CFTR препятствует правильной укладке синтезируемого белка. Это приводит к неспособности мутантного белка выходить из эндоплазматического ретикулума (ER) и перемещаться к плазматической мембране. В результате количество каналов CFTR для транспорта анионов, присутствующих в мембране, намного меньше, чем наблюдается в клетках, экспрессирующих CFTR дикого типа, т. е. CFTR, не имеющего мутаций. Помимо нарушения транспортировки, мутация приводит к нарушению открытия канала. Вместе уменьшенное количество каналов в

мембране и нарушенное открытие приводят к снижению транспорта анионов и жидкости через эпителий. (Quinton, P. M. (1990), FASEB J. 4: 2709-2727). Каналы, которые нарушены из-за мутации F508del, все еще функциональны, хотя и менее функциональны, чем каналы CFTR дикого типа. (Dalemans et al. (1991), Nature Lond. 354: 526-528; Pasyk and Foskett (1995), J. Cell. Biochem. 270: 12347-50). В дополнение к F508del другие вызывающие заболевание мутации в CFTR, которые приводят к нарушению транспортировки, синтеза и/или открытия канала, могут активироваться или подавляться с изменением секреции анионов и модификацией прогрессирования и/или тяжести заболевания.

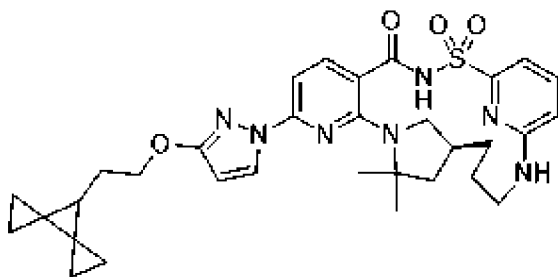
[0007] CFTR представляет собой цАМФ/АТФ-опосредованный анионный канал, который экспрессируется в различных типах клеток, включая абсорбирующие и секреторные клетки эпителия, где он регулирует поток анионов через мембрану, а также активность других ионных каналов и белков. В эпителиальных клетках нормальное функционирование CFTR имеет решающее значение для поддержания транспорта электролитов по всему телу, включая ткани респираторного и пищеварительного тракта. CFTR состоит из 1480 аминокислот, которые кодируют белок, состоящий из tandemного повтора трансмембранных доменов, каждый из которых содержит шесть трансмембранных спиралей и нуклеотид-связывающий домен. Два трансмембранных домена связаны большим полярным регуляторным (R)-доменом с множеством сайтов фосфорилирования, которые регулируют активность каналов и транспортировку в клетках.

[0008] Транспорт хлоридов происходит за счет скоординированной активности ENaC и CFTR, присутствующих на апикальной мембране, и  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-АТФазного}$  насоса и  $\text{Cl}^-$ -каналов, экспрессируемых на базолатеральной поверхности клетки. Вторичный активный транспорт хлорида с люминальной стороны приводит к накоплению внутриклеточного хлорида, который затем может пассивно покинуть клетку через  $\text{Cl}^-$  каналы, что приводит к векторному транспорту. Расположение  $\text{Na}^+/\text{2Cl}^-/\text{K}^+$ -котранспортера,  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-АТФазного}$  насоса и  $\text{K}^+$ -каналов базолатеральной мембраны на базолатеральной поверхности и CFTR на люминальной стороне координирует секрецию хлорида через CFTR на люминальной стороне. Поскольку вода, вероятно, никогда не переносится активно, ее поток через эпителий зависит от крошечных трансэпителиальных осмотических градиентов, создаваемых основным потоком натрия и хлорида.

[0009] Недавно был идентифицирован ряд соединений, модулирующих CFTR. Однако соединения, которые могут лечить или уменьшать тяжесть муковисцидоза и других заболеваний, опосредованных CFTR, и особенно более тяжелых форм этих заболеваний, все еще необходимы.

[0010] Таким образом, в одном аспекте настоящего изобретения предусмотрено соединение, модулирующее CFTR, (14S)-8-[3-(2-{диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил}этокси)-1H-пирозол-1-ил]-12,12-диметил-2λ6-тиа-3,9,11,18,23-пентаазатетрацикло [17.3.1.111,14.05,10]тетракоза-1(22),5,7,9,19(23),20-гексаен-2,2,4-трион (соединение I) и

его фармацевтически приемлемые соли. Соединение **I** можно представить как характеризующийся следующей структурой:

**I**

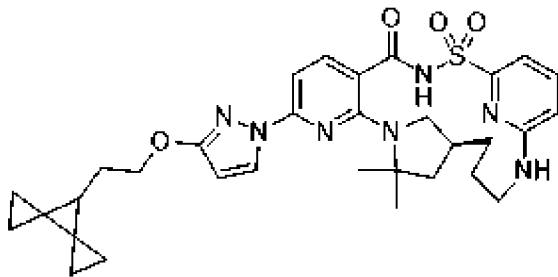
[0011] В других аспектах настоящего изобретения предусмотрены фармацевтические композиции, содержащие соединение **I** и/или по меньшей мере одну его фармацевтически приемлемую соль, при этом композиции могут дополнительно включать по меньшей мере один дополнительный активный фармацевтический ингредиент и/или по меньшей мере один носитель. Другими аспектами настоящего изобретения являются способы лечения муковисцидоза, представляющего собой заболевание, опосредованное CFTR, включающие введение соединения **I** и/или по меньшей мере одной его фармацевтически приемлемой соли, необязательно в качестве части фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере один дополнительный компонент, нуждающемуся в этом субъекту. В дополнительном аспекте настоящего изобретения также раскрыты способы получения соединения **I** и/или его фармацевтически приемлемых солей.

[0012] В одном варианте осуществления предусмотрен способ лечения муковисцидоза, представляющего собой заболевание, опосредованное CFTR, включающий введение (14S)-8-[3-(2-{диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил}этоксид)-1H-пиразол-1-ил]-12,12-диметил-2λ6-тиа-3,9,11,18,23-пентаазатетрацикло [17.3.1.111,14.05,10]тетракоза-1(22),5,7,9,19(23),20-гексаен-2,2,4-триона (соединение **I**) отдельно или в комбинации с (R)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-N-(1-(2,3-дигидроксипропил)-6-фтор-2-(1-гидрокси-2-метилпропан-2-ил)-1H-индол-5-ил)циклопропанкарбоксамидом (соединение **II**) и/или N-[2,4-бис(1,1-диметилэтил)-5-гидроксифенил]-1,4-дигидро-4-оксохиолин-3-карбоксамидом (соединением **III**) или N-(2-(*трет*-бутил)-5-гидрокси-4-(2-(метил-d3)пропан-2-ил)-1,1,1,3,3,3-d6)фенил)-4-оксо-1,4-дигидрохиолин-3-карбоксамидом (соединением **III-d**). В определенных вариантах осуществления способ лечения муковисцидоза, представляющего собой заболевание, опосредованное CFTR, включает введение соединения **I** в комбинации с соединением **III** или **III-d** и 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)циклопропанкарбоксамидо)-3-метилпиридин-2-ил)бензойной кислотой (соединением **IV**). В некоторых вариантах осуществления соединение **I** вводят в одной и той же композиции с соединением **II** и соединением **III**. В некоторых вариантах осуществления соединение **I** вводят в одной и той же композиции с соединением **II** и соединением **III-d**. В некоторых вариантах осуществления соединение **I** вводят в одной и той же композиции с соединением **III** и соединением **IV**. В некоторых вариантах осуществления соединение **I** вводят в одной и той же композиции с

соединением **III-d** и соединением **IV**. В некоторых вариантах осуществления композицию, содержащую соединение **I**, совместно вводят с отдельной композицией, содержащей соединение **II** и/или соединение **III**. В некоторых вариантах осуществления композицию, содержащую соединение **I**, совместно вводят с отдельной композицией, содержащей соединение **II** и/или соединение **III-d**. В некоторых вариантах осуществления композицию, содержащую соединение **I**, совместно вводят с отдельной композицией, содержащей соединение **III** и соединение **IV**. В некоторых вариантах осуществления композицию, содержащую соединение **I**, совместно вводят с отдельной композицией, содержащей соединение **III-d** и соединение **IV**.

### Определения

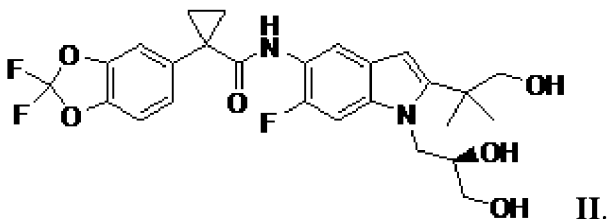
[0013] «Соединение **I**», используемое по всему тексту настоящего изобретения, относится к (14S)-8-[3-(2-{диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил}этокси)-1H-пиразол-1-ил]-12,12-диметил-2λ6-тиа-3,9,11,18,23-пентаазатетрацикло[17.3.1.111,14.05,10]тетракоза-1(22),5,7,9,19(23),20-гексаен-2,2,4-триону, который может быть изображен, как характеризующийся следующей структурой:



**I.**

Соединение **I** может находиться в форме изомерной смеси или энантиобогащенных (например, >90% э.и., >95% э.и., > 98% э.и.) изомеров. Соединение **I** может быть в форме фармацевтически приемлемой соли.

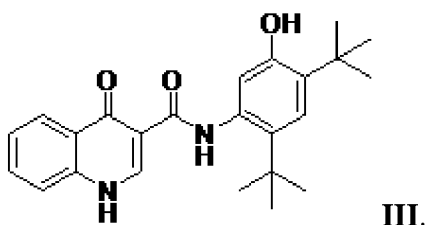
[0014] Термин «соединение **II**», используемый в данном документе, относится к (R)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-N-(1-(2,3-дигидроксипропил)-6-фтор-2-(1-гидрокси-2-метилпропан-2-ил)-1H-индол-5-ил)циклопропанкарбоксамиду, который может быть изображен с помощью следующей структуры:



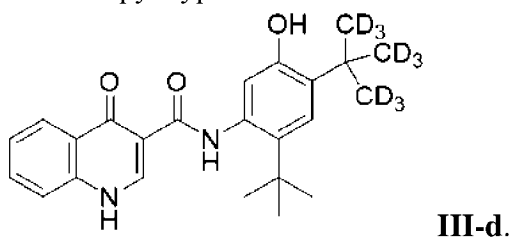
**II.**

Соединение **II** может находиться в форме фармацевтически приемлемой соли.

[0015] Термин «соединение **III**», используемый по всему тексту настоящего изобретения, относится к N-(5-гидрокси-2,4-ди-*трет*-бутил-фенил)-4-оксо-1H-хинолин-3-карбоксамиду, который изображен при помощи структуры:

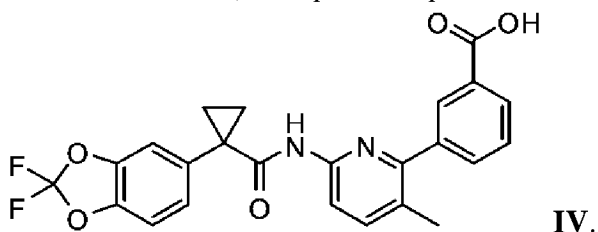


Соединение **III** может находиться также в форме фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах осуществления дейтерированное производное соединения **III** (соединение **III-d**) используют в композициях и способах, раскрытых в данном документе. Химическое название соединения **III-d** N-(2-(*tert*-бутил)-5-гидрокси-4-(2-(метил-d3)пропан-2-ил-1,1,1,3,3,3-d6)фенил)-4-оксо-1,4-дигидрохинолин-3-карбоксамид, как показано структурой:



Соединение **III-d** может находиться в форме фармацевтически приемлемой соли.

[0016] Термин «соединение **IV**», используемый в данном документе, относится к 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)циклопропанкарбоксамидо)-3-метилпиридин-2-ил)бензойной кислоте, которая изображается следующей химической структурой:



Соединение **IV** может находиться в форме фармацевтически приемлемой соли.

[0017] Используемый в данном документе термин «CFTR» означает регулятор трансмембранной проводимости при муковисцидозе.

[0018] Используемый в данном документе термин «мутации» может означать мутации в гене CFTR или белке CFTR. «Мутация гена CFTR» относится к мутации в гене CFTR, а «мутация белка CFTR» относится к мутации в белке CFTR. Генетические дефект, или мутация, или замена в нуклеотидах в гене в целом приводят к мутации в белке CFTR, транслированном с этого гена, или к сдвигу(-ам) рамки считывания.

[0019] Термин «F508del» относится к мутантному белку CFTR, в котором отсутствует аминокислота фенилаланин в положении 508.

[0020] При использовании в данном документе пациент, который является «гомозиготным» по определенной генной мутации, характеризуется одинаковой мутацией в каждом аллеле.

[0021] При использовании в данном документе пациент, который является «гетерозиготным» по определенной генной мутации, характеризуется этой определенной мутацией в одном аллеле и другой мутацией в другом аллеле.

[0022] Используемый в данном документе термин «модулятор» относится к соединению, которое повышает активность такого биологического соединения, как белок. Например, модулятор CFTR представляет собой соединение, которое повышает активность CFTR. Повышение активности под действием модулятора CFTR относится, но без ограничения, к соединениям, которые корректируют, стимулируют, стабилизируют и/или усиливают CFTR.

[0023] Используемый в данном документе термин «корректор CFTR» относится к соединению, которое облегчает процессинг и транспортировку CFTR для увеличения количества CFTR на клеточной поверхности. Соединения **I** и **II**, раскрытые в данном документе, являются корректорами CFTR.

[0024] Используемый в данном документе термин «стимулятор CFTR» относится к соединению, которое увеличивает активность канала белка CFTR, расположенного на клеточной поверхности, что приводит к усилению транспорта ионов. Соединения **III** и **III-d**, раскрытые в данном документе, являются стимуляторами CFTR. Следует понимать, что когда в данном документе приводится описание комбинации соединения **I** и других конкретных средств, модулирующих CFTR, ссылка на «соединение **III** или **III-d**» в связи с комбинацией означает, что либо соединение **III**, либо соединение **III-d**, но не оба, включены в комбинацию.

[0025] Используемый в данном документе термин «активный фармацевтический ингредиент» или «терапевтическое средство» («API») относится к биологически активному соединению.

[0026] Используемый в данном документе термин «фармацевтически приемлемая соль» относится к солевой форме соединения по настоящему изобретению, где соль является нетоксичной. Фармацевтически приемлемые соли соединений по настоящему изобретению включают соли, полученные из подходящих неорганических и органических кислот и оснований. Фармацевтически приемлемые соли хорошо известны в данной области. Например, S. M. Berge, et al. подробно описывают фармацевтически приемлемые соли в J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19.

[0027] Используемый в данном документе термин «аморфный» означает твердый материал, характеризующийся отсутствием дальнего порядка в положении своих молекул. Аморфные твердые вещества, в целом, представляют собой переохлажденные жидкости, в которых молекулы расположены случайным образом так, что отсутствует четко определенная организация, например, молекулярная упаковка, и отсутствует дальний порядок. Аморфные твердые вещества обычно изотропны, т.е. проявляют одинаковые свойства во всех направлениях и не имеют определенных точек плавления. Например, аморфный материал представляет собой твердый материал, характеризующийся отсутствием четкого(четких) характеристического(характеристических) пика(пиков)

кристаллического(кристаллических) вещества(веществ) на своей диаграмме рентгеновской порошковой дифракции (XRPD) (т.е., не является кристаллическим, как определено посредством XRPD). Взамен этого, на его диаграмме XRPD появляются один или несколько широких пиков (например, гало). Широкие пики являются характерным отличием аморфного твердого вещества. См. US 2004/0006237 для сравнения XRPD аморфного материала и кристаллического материала. В некоторых вариантах осуществления твердый материал может содержать аморфное соединение, и материал может, например, характеризоваться отсутствием четкого(четких) характеристического(характеристических) пика(пиков) кристаллического(кристаллических) пика(пиков) вещества(веществ) на своем спектре XRPD (т.е. материал не является кристаллическим, но является аморфным, как определено посредством XRPD). Взамен этого, на диаграмме XRPD материала могут появиться один или несколько широких пиков (например, гало). См. US 2004/0006237 для сравнения XRPD аморфного материала и кристаллического материала. Твердый материал, содержащий аморфное соединение, может характеризоваться, например, более широким диапазоном температур плавления твердого материала по сравнению с диапазоном плавления чистого кристаллического твердого вещества. Другие методы, такие как, например, рамановскую спектроскопию, инфракрасную спектроскопию и твердотельный ЯМР, можно использовать для характеристики кристаллических или аморфных форм.

[0028] В некоторых вариантах осуществления твердый материал может содержать смесь кристаллических твердых веществ и аморфных твердых веществ. Твердый материал, полученный с включением аморфного соединения, может также, например, содержать до 30% кристаллического твердого вещества. В некоторых вариантах осуществления твердый материал, полученный с включением аморфного соединения, может также, например, содержать до 25%, 20%, 15%, 10%, 5% или 2% кристаллического твердого вещества. В вариантах осуществления, в которых твердый материал содержит смесь кристаллических твердых веществ и аморфных твердых веществ, характеристические данные, такие как XRPD, могут содержать индикаторы как кристаллических, так и аморфных твердых веществ.

[0029] Используемый в данном документе термин «по существу аморфный» относится к твердому материалу, характеризующемуся слабым дальним порядком в положении своих молекул или характеризующемуся его отсутствием. Например, по существу аморфные материалы характеризуются кристаллическостью менее 15% (например, кристаллическостью менее 10%, кристаллическостью менее 5% или кристаллическостью менее 2%). Также следует отметить, что термин «по существу аморфный» включает дескриптор «аморфный», который относится к материалам, не имеющим кристаллическости (0%).

[0030] Используемый в данном документе термин «дисперсия» относится к дисперсной системе, в которой одно вещество, дисперсная фаза, распределено в виде дискретных элементов во втором веществе (непрерывной фазе или среде-носителе).



Размер дисперсной фазы может значительно варьироваться (например, коллоидные частицы размером от нанометров до нескольких микрон). Обычно дисперсные фазы могут быть твердыми веществами, жидкостями или газами. В случае твердой дисперсии как дисперсная, так и непрерывная фаза являются твердыми веществами. В фармацевтических применениях твердая дисперсия может включать кристаллическое лекарственное средство (дисперсная фаза) в аморфном полимере (непрерывная фаза); или, альтернативно, аморфное лекарственное средство (дисперсная фаза) в аморфном полимере (непрерывная фаза). В некоторых вариантах осуществления твердая дисперсия включает полимер, составляющий дисперсную фазу, и лекарственное средство, составляющее непрерывную фазу. Или твердая дисперсия включает лекарственное средство, составляющее дисперсную фазу, и полимер, составляющий непрерывную фазу.

[0031] Термины «пациент» и «субъект» используют взаимозаменяемо, и они означают животное, в том числе человека.

[0032] Используемые в данном документе термины «лечение», «осуществление лечения» и подобные обычно означают облегчение СФ или его симптомов или уменьшение тяжести СФ или его симптомов у субъекта. Используемый в данном документе термин «лечение» включает, но без ограничения, следующее: увеличение роста субъекта, увеличение набора веса, уменьшение слизи в легких, улучшение функции поджелудочной железы и/или печени, уменьшение инфекций дыхательных путей и/или уменьшение кашля или одышки. Облегчение или уменьшение тяжести любого из таких симптомов можно легко оценить в соответствии со стандартными способами и методиками, известными в данной области.

[0033] Используемый в данном документе термин «в комбинации с», если относится к двум или более соединениям, средствам или дополнительным активным фармацевтическим ингредиентам, означает введение пациенту двух или более соединений, средств или активных фармацевтических ингредиентов друг перед другом, одновременно или друг после друга.

[0034] Термины «приблизительно» и «примерно», при использовании в отношении доз, количеств или процентов по весу ингредиентов композиции или лекарственной формы, включают значение указанных дозы, количества или процентов по весу или диапазон дозы, количества или процентов по весу, который понимается специалистом средней квалификации в данной области техники для обеспечения фармакологического эффекта, эквивалентного таковому, полученному при указанных дозе, количестве или процентах по весу. Термины «приблизительно» и «примерно» могут относиться к допустимой ошибке для конкретного значения, определяемой специалистом в данной области, что частично зависит от того, как эти значения измеряют или определяют. В некоторых вариантах осуществления «приблизительно» и «примерно» означают в пределах 20%, 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% или 0,5% от заданного значения или диапазона.

[0035] Специалист средней квалификации в данной области техники поймет, что если раскрыто количество «соединения или его фармацевтически приемлемой соли», то количество формы фармацевтически приемлемой соли соединения представляет собой количество, эквивалентное концентрации свободного основания соединения. Следует отметить, что раскрытые количества соединений или их фармацевтически приемлемых солей в данном документе основаны на форме их свободного основания. Например, «100 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей» включает 100 мг соединения I и концентрацию фармацевтически приемлемой соли соединения I, эквивалентную 100 мг соединения I.

[0036] Подходящие фармацевтически приемлемые соли представляют собой, например, раскрытые в S. M. Berge, et al. J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19. Например, в таблице 1 указанной статьи предусмотрены приведенные ниже фармацевтически приемлемые соли.

**Таблица 1:**

Ацетат	Йодид	Соль бензатина
Бензолсульфонат	Изетионат	Соль хлорпрокаина
Бензоат	Лактат	Соль холина
Бикарбонат	Лактобионат	Соль диэтаноламина
Битартрат	Малат	Соль этилендиамина
Бромид	Малеат	Соль меглюмина
Соль с эдетатом кальция	Манделат	Соль прокаина
Камзилат	Мезилат	Соль алюминия
Карбонат	Метилбромид	Соль кальция
Хлорид	Метилнитрат	Соль лития
Цитрат	Метилсульфат	Соль магния
Дигидрохлорид	Муцинат	Соль калия
Эдетат	Напсилат	Соль натрия
Эдисилат	Нитрат	Соль цинка
Эстолат	Памоат (эмбонат)	
Эсилат	Пантотенат	
Фумарат	Фосфат/дифосфат	
Глюцептат	Полигалактуронат	
Глюконат	Салицилат	
Глутамат	Стеарат	
Гликолиларсанилат	Основной ацетат	
Гексилрезорцинат	Сукцинат	

Соль гидрабамина	Сульфат	
Гидробромид	Таннат	
Гидрохлорид	Тартрат	
Гидроксинафтоат	Теоклат	
	Триэтидид	

[0037] Неограничивающие примеры фармацевтически приемлемых солей присоединения кислоты, включают соли, образованные с неорганическими кислотами, такими как хлористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, фосфорная кислота, серная кислота или перхлорная кислота; соли, образованные с органическими кислотами, такими как уксусная кислота, щавелевая кислота, малеиновая кислота, винная кислота, лимонная кислота, янтарная кислота или малоновая кислота; и соли, образованные с применением других способов, применяемых в данной области техники, таких как ионный обмен. Неограничивающие примеры фармацевтически приемлемых солей включают соли, представляющие собой адипат, альгинат, аскорбат, аспартат, бензолсульфонат, бензоат, бисульфат, борат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, цитрат, циклопентанпропионат, диглюконат, додецилсульфат, этансульфонат, формиат, фумарат, глюкогептонат, глицерофосфат, глюконат, гемисульфат, гептаноат, гексаноат, гидройодид, 2-гидроксиэтансульфонат, лактобионат, лактат, лаурат, лаурилсульфат, малат, малеат, малонат, метансульфонат, 2-нафталинсульфонат, никотинат, нитрат, олеат, оксалат, пальмитат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионат, фосфат, пикрат, пивалат, пропионат, стеарат, сукцинат, сульфат, тартрат, тиоцианат, п-толуолсульфонат, ундеканат и валерат. Фармацевтически приемлемые соли, полученные из подходящих оснований, включают соли щелочных металлов, щелочноземельных металлов, аммония и  $N^+(C_{1-4}\text{алкил})_4$ . В настоящем изобретении также рассматривается кватернизация любых основных содержащих азот групп в соединениях, раскрытых в данном документе. Подходящие неограничивающие примеры солей щелочных и щелочноземельных металлов включают соли натрия, лития, калия, кальция и магния. Дополнительные неограничивающие примеры фармацевтически приемлемых солей включают катионы аммония, четвертичного аммония и амина, образованные с применением противоионов, таких как галогенид, гидроксид, карбоксилат, сульфат, фосфат, нитрат, сульфонат низшего алкила и арилсульфонат. Другие подходящие неограничивающие примеры фармацевтически приемлемых солей включают безилатные и глюкозаминные соли.

#### **Виды комбинированной терапии**

[0038] В одном из раскрытых в данном документе аспектов предусмотрены способы лечения муковисцидоза и других заболеваний, опосредованных CFTR, с помощью соединения I в комбинации с другими фармацевтически активными средствами, в том числе средствами, модулирующими CFTR. В некоторых вариантах осуществления соединение I (и/или по меньшей мере одну его фармацевтически приемлемую соль) можно вводить в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным активным

фармацевтическим ингредиентом, таким как, например, средство, модулирующее CFTR. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один дополнительный активный фармацевтический ингредиент выбран из (а) соединения **II** и его фармацевтически приемлемых солей и (b) соединения **III** или соединения **III-d** и фармацевтически приемлемых солей соединения **III** или соединения **III-d**. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления предусмотренные в данном документе способы лечения включают введение нуждающемуся в этом пациенту по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, и по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **II**, (соединения **III** или **III-d**) и их фармацевтически приемлемых солей. В некоторых вариантах осуществления предусмотренные в данном документе способы лечения включают введение нуждающемуся в этом пациенту по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, и по меньшей мере одного соединения, выбранного из (соединения **III** или **III-d**), соединения **IV** и/или их фармацевтически приемлемых солей.

[0039] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в комбинации с по меньшей мере одним соединением, выбранным из соединения **II** и его фармацевтически приемлемых солей. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в комбинации с по меньшей мере одним соединением, выбранным из соединения **III** и его фармацевтически приемлемых солей. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в комбинации с по меньшей мере одним соединением, выбранным из соединения **III-d** и его фармацевтически приемлемых солей. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в комбинации с соединением **II** или его фармацевтически приемлемой солью и по меньшей мере одним соединением, выбранным из соединения **III** и его фармацевтически приемлемых солей. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в комбинации с по меньшей мере одним соединением, выбранным из соединения **II** и его фармацевтически приемлемых солей, и по меньшей мере одним соединением, выбранным из соединения **III-d** и его фармацевтически приемлемых солей.

[0040] Каждое из соединений **I**, **II** и **III** или **III-d** и их фармацевтически приемлемые соли независимо можно вводить один раз в день, два раза в день или три раза в день. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят один раз в день. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят два раза в



выбранное из соединения **IV** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят один раз в день, и по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **III-d** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят два раза в день.

[0043] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в количестве от 5 мг до 20 мг. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в количестве 5 мг, 10 мг, 15 мг или 20 мг ежедневно. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в количестве 5 мг, 10 мг или 20 мг один раз в день. В некоторых вариантах осуществления 5 мг или 10 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемых солей вводят два раза в день.

[0044] Соединения **I**, **II**, (**III** или **III-d**) и их фармацевтически приемлемые соли можно вводить в одной фармацевтической композиции или в отдельных фармацевтических композициях. Такие фармацевтические композиции можно вводить один раз в день или несколько раз в день, например, два раза в день. Используемая в данном документе фраза о том, что данное количество АРІ (например, соединения **I**, **II**, (**III**, **III-d**) или его фармацевтически приемлемой соли) вводят один или два раза в день или в сутки, означает, что указанное количество вводят на дозу один или два раза в день. Например, фраза о том, что 50 мг соединения **II** или его фармацевтически приемлемой соли вводят два раза в день или в сутки, означает, что 50 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят на дозу два раза в сутки (например, 50 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят утром и 50 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят вечером).

[0045] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в первой фармацевтической композиции; по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **II** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят во второй фармацевтической композиции и по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **III** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в третьей фармацевтической композиции.

[0046] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в первой фармацевтической композиции; по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **II** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят во второй фармацевтической композиции; по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **III-d** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в третьей фармацевтической композиции.

[0047] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение,

выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в первой фармацевтической композиции; по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **III** или **III-d** и их фармацевтически приемлемых солей, вводят во второй фармацевтической композиции; по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **IV** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в третьей фармацевтической композиции.

[0048] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в первой фармацевтической композиции и по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **II** и его фармацевтически приемлемых солей, и по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **III** или **III-d** и их фармацевтически приемлемых солей, вводят во второй фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления вторая фармацевтическая композиция содержит половину суточной дозы указанного по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **III**, **III-d** и их фармацевтически приемлемых солей, и другую половину указанного по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **III**, **III-d** и их фармацевтически приемлемых солей, вводят в третьей фармацевтической композиции.

[0049] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей; по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **II** и его фармацевтически приемлемых солей, и по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **III**, **III-d** и их фармацевтически приемлемых солей, вводят в первой фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления первую фармацевтическую композицию вводят пациенту два раза в день. В некоторых вариантах осуществления первую фармацевтическую композицию вводят один раз в день. В некоторых вариантах осуществления первую фармацевтическую композицию вводят один раз в день и вторую композицию, содержащую только соединение **III**, вводят один раз в день.

[0050] Любые подходящие фармацевтические композиции, известные в данной области, можно использовать для соединения **I**, соединения **II**, соединения **III**, соединения **III-d** и их фармацевтически приемлемых солей. Некоторые иллюстративные фармацевтические композиции для соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей описаны в примерах. Некоторые иллюстративные фармацевтические композиции для соединения **II** и его фармацевтически приемлемых солей можно найти в WO 2011/119984 и WO 2014/014841, включенных в данный документ посредством ссылки. Некоторые иллюстративные фармацевтические композиции для соединения **III** и его фармацевтически приемлемых солей можно найти в WO 2007/134279, WO 2010/019239, WO 2011/019413, WO 2012/027731 и WO 2013/130669, и некоторые иллюстративные фармацевтические композиции для соединения **III-d** и его фармацевтически приемлемых солей можно найти в патенте США № 8865902, патенте США № 9181192, патенте США № 9512079, WO 2017/053455, и WO 2018/080591, все из которых включены в данный

документ посредством ссылки. Некоторые иллюстративные фармацевтические композиции для соединения **IV** и его фармацевтически приемлемых солей можно найти в WO 2010/037066, WO 2011/127241 и WO 2014/071122, включенных в данный документ посредством ссылки.

[0051] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию, содержащую по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят с фармацевтической композицией, содержащей соединение **II** и соединение **III** или **III-d**. Фармацевтические композиции, содержащие соединение **II** и соединение **III**, раскрыты в публикации согласно РСТ № WO 2015/160787, включенной в данный документ посредством ссылки. Иллюстративный вариант осуществления показан в таблице 2.

**Таблица 2. Иллюстративная таблетка, содержащая 100 мг соединения II и 150 мг соединения III.**

	<b>Ингредиент</b>	<b>Количество в расчете на таблетку (мг)</b>
Внутригранулярный	SDD (высушенная распылением дисперсия) соединения <b>II</b> (80 вес. % соединения II; 20 вес. % НРМС)	125
	SDD соединения <b>III</b> (80 вес. % соединения III; 19,5 вес. % НРМСАС-НГ; 0,5 вес. % лаурилсульфата натрия)	187,5
	Микрокристаллическая целлюлоза	131,4
	Кроскарбоксиметилцеллюлоза натрия	29,6
	<b>Всего</b>	<b>473,5</b>
Внегранулярный	Микрокристаллическая целлюлоза	112,5
	Стеарат магния	5,9
	<b>Всего</b>	<b>118,4</b>
<b>Таблетка без покрытия суммарно</b>		<b>591,9</b>
Пленочное покрытие	Опадрай	17,7
<b>Таблетка с покрытием</b>		<b>609,6</b>



суммарно		
----------	--	--

[0052] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию, содержащую соединение I, вводят с фармацевтической композицией, содержащей соединение III или III-d. Фармацевтические композиции, содержащие соединение III, раскрыты в публикации согласно РСТ № WO 2010/019239, включенной в данный документ посредством ссылки. Иллюстративный вариант осуществления показан в таблице 3 ниже.

**Таблица 3: Ингредиенты для иллюстративной таблетки с соединением III.**

Состав таблетки	Процент от дозы вес. %/вес.	Доза (мг)	Партия (г)
SDD соединения III (80 вес. % соединения III; 19,5 вес. % НРМСАС-НГ; 0,5 вес. % лаурилсульфата натрия)	34,09%	187,5	23,86
Микрокристаллическая целлюлоза	30,51%	167,8	21,36
Лактоза	30,40%	167,2	21,28
Кроскарбоксиметилцеллюлоза натрия	3,000%	16,50	2,100
SLS	0,500%	2,750	0,3500
Коллоидный диоксид кремния	0,500%	2,750	0,3500
Стеарат магния	1,000%	5,500	0,7000
<b>Всего</b>	<b>100%</b>	<b>550</b>	<b>70</b>

[0053] Дополнительные фармацевтические композиции, содержащие соединение III, раскрыты в публикации согласно РСТ № WO 2013/130669, включенной в данный документ посредством ссылки. Иллюстративные мини-таблетки (диаметр ~2 мм, толщина ~2 мм, каждая мини-таблетка весит приблизительно 6,9 мг) были составлены таким образом, чтобы содержать примерно 50 мг соединения III на 26 мини-таблеток и примерно 75 мг соединения III на 39 мини-таблеток, с количеством ингредиентов, указанным в таблице 4.

**Таблица 4: Ингредиенты для мини-таблеток при содержании действующих веществ 50 мг и 75 мг**

Состав таблетки	Процент от дозы Вес. %/вес.	Доза (мг) Содержание действующего вещества 50 мг	Доза (мг) Содержание действующего вещества 75 мг	Партия (г)
SDD соединения III	35	62,5	93,8	1753,4

(80 вес. % соединения III; 19,5 вес. % НРМСАС-НГ; 0,5 вес. % лаурилсульфата натрия)				
Маннит	13,5	24,1	36,2	675,2
Лактоза	41	73,2	109,8	2050,2
Сукралоза	2,0	3,6	5,4	100,06
Кроскарбоксиметилцеллюлоза натрия	6,0	10,7	16,1	300,1
Коллоидный диоксид кремния	1,0	1,8	2,7	50,0
Стеарат магния	1,5	2,7	4,0	74,19
<b>Всего</b>	<b>100</b>	<b>178,6</b>	<b>268</b>	<b>5003,15</b>

[0054] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию, содержащую соединение I, вводят с фармацевтической композицией, содержащей соединение III и соединение IV. Фармацевтические композиции, содержащие соединение III и соединение IV, раскрыты в публикации согласно РСТ № WO 2014/071122, включенной в данный документ посредством ссылки. Иллюстративный вариант осуществления показан в таблице 5 ниже.

**Таблица 5: Ингредиенты для иллюстративной таблетки соединения III и соединения IV**

Состав таблетки	Процент от дозы	Доза (мг)
	Вес. %/вес.	Содержание действующего вещества 200 мг
Форма I соединения IV	35	200
SDD соединения III (80 вес. % соединения III; 19,5 вес. % НРМСАС-НГ; 0,5 вес. % лаурилсульфата натрия)	28	156
Микрокристаллическая целлюлоза	26	150
Кроскарбоксиметилцеллюлоза натрия	6	34
Лаурилсульфат натрия	1	4
Поливинилпирролидон	3	15
Стеарат магния	1	6

[0055] В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, используемые в видах комбинированной терапии по настоящему изобретению, представляют собой таблетки. В некоторых вариантах осуществления таблетки пригодны

для перорального введения. Эти композиции и комбинации полезны для лечения муковисцидоза.

### **Способы лечения**

[0056] Мутация CFTR может повлиять на количество CFTR, т. е. количество каналов CFTR на поверхности клетки, или она может повлиять на функцию CFTR, т. е. функциональную способность каждого канала открываться и транспортировать ионы. Мутации, влияющие на количество CFTR, включают мутации, вызывающие нарушение синтеза (дефект класса I), мутации, вызывающие нарушение процессинга и транспортировки (дефект класса II), мутации, вызывающие снижение синтеза CFTR (дефект класса V), и мутации, которые снижают стабильность поверхности CFTR (дефект класса VI). Мутации, влияющие на функцию CFTR, включают мутации, вызывающие нарушение открытия (дефект класса III), и мутации, вызывающие нарушение проводимости (дефект класса IV). Некоторые мутации CFTR обладают характеристиками нескольких классов.

[0057] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыты способы лечения, уменьшения тяжести или симптоматического лечения муковисцидоза у пациента, включающие введение эффективного количества соединения, его фармацевтически приемлемой соли или дейтерированного аналога любого из вышеперечисленных, или фармацевтической композиции по настоящему изобретению пациенту, такому как человек, где указанный пациент страдает муковисцидозом. В некоторых вариантах осуществления пациент имеет генотип F508del/c минимальной функцией (MF), генотип F508del/F508del (гомозиготный по мутации F508del), генотип F508del/открытия или генотип F508del/c остаточной функцией (RF). В некоторых вариантах осуществления пациент является гетерозиготным и имеет одну мутацию F508del.

[0058] Используемый в данном документе термин «мутации с минимальной функцией (MF)» относится к мутациям гена CFTR, связанным с минимальной функцией CFTR (практически не функционирующий белок CFTR), и включает, например, мутации, связанные с серьезными нарушениями способности канала CFTR к открытию и закрытию, известные как нарушенное открытие каналов или «мутации открытия»; мутации, связанные с серьезными нарушениями клеточного процессинга CFTR и его доставки на поверхность клетки; мутации, связанные с отсутствием (или минимальным присутствием) синтеза CFTR; и мутации, связанные с серьезными нарушениями проводимости канала.

[0059] В некоторых вариантах осуществления пациент является гетерозиготным и имеет мутацию F508del на одном аллеле и мутацию на другом аллеле, выбранную из таблицы 6:

**Таблица 6: Мутации CFTR**

<b>Мутация</b>				
Q2X	L218X	Q525X	R792X	E1104X

<b>Мутация</b>				
S4X	Q220X	G542X	E822X	W1145X
W19X	Y275X	G550X	W882X	R1158X
G27X	C276X	Q552X	W846X	R1162X
Q39X	Q290X	R553X	Y849X	S1196X
W57X	G330X	E585X	R851X	W1204X
E60X	W401X	G673X	Q890X	L1254X
R75X	Q414X	Q685X	S912X	S1255X
L88X	S434X	R709X	Y913X	W1282X
E92X	S466X	K710X	Q1042X	Q1313X
Q98X	S489X	Q715X	W1089X	Q1330X
Y122X	Q493X	L732X	Y1092X	E1371X
E193X	W496X	R764X	W1098X	Q1382X
W216X	C524X	R785X	R1102X	Q1411X
185+1G→T	711+5G→A	1717-8G→A	2622+1G→A	3121-1G→A
296+1G→A	712-1G→T	1717-1G→A	2790-1G→C	3500-2A→G
296+1G→T	1248+1G→A	1811+1G→C	3040G→C	3600+2insT
405+1G→A	1249-1G→A	1811+1,6 т.п.н. A→G	(G970R)	3850-1G→A
405+3A→C	1341+1G→A	1811+1643G→T	3120G→A	4005+1G→A
406-1G→A	1525-2A→G	1812-1G→A	3120+1G→A	4374+1G→T
621+1G→T	1525-1G→A	1898+1G→A	3121-2A→G	
711+1G→T		1898+1G→C		
182delT	1078delT	1677delTA	2711delT	3737delA
306insA	1119delA	1782delA	2732insA	3791delC
306delTAGA	1138insG	1824delA	2869insG	3821delT
365-366insT	1154insTC	1833delT	2896insAG	3876delA
394delTT	1161delC	2043delG	2942insT	3878delG
442delA	1213delT	2143delT	2957delT	3905insT
444delA	1259insA	2183AA→G	3007delG	4016insT
457TAT→G	1288insTA	2184delA	3028delA	4021dupT
541delC	1343delG	2184insA	3171delC	4022insT
574delA	1471delA	2307insA	3171insC	4040delA
663delT	1497delGG	2347delG	3271delGG	4279insA
849delG	1548delG	2585delT	3349insT	4326delTC

<b>Мутация</b>			
935delA	1609del CA	2594delGT	3659delC
CFTRdele1		CFTRdele16-17b	1461ins4
CFTRdele2		CFTRdele17a,17b	1924del7
CFTRdele2,3		CFTRdele17a-18	2055del9→A
CFTRdele2-4		CFTRdele19	2105-2117del13insAGAAA
CFTRdele3-10,14b-16		CFTRdele19-21	2372del8
CFTRdele4-7		CFTRdele21	2721del11
CFTRdele4-11		CFTRdele22-24	2991del32
CFTR50kdel		CFTRdele22,23	3667ins4
CFTRdup6b-10		124del23bp	4010del4
CFTRdele11		602del14	4209TGTT→AA
CFTRdele13,14a		852del22	
CFTRdele14b-17b		991del5	
A46D	V520F	Y569D	N1303K
G85E	A559T	L1065P	
R347P	R560T	R1066C	
L467P	R560S	L1077P	
I507del	A561E	M1101K	

[0060] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение также относится к способам лечения с использованием меченных изотопами соединений вышеупомянутых соединений, которые в некоторых вариантах осуществления упоминаются как соединение **I'**, соединение **II'**, соединение **III'**, соединение **III-d**. В некоторых вариантах осуществления соединения **I'**, соединения **II'**, соединения **III'**, соединения **III-d** или их фармацевтически приемлемые соли, где каждая формула и параметры таких соединений и солей независимо друг от друга такие, как описано выше, или любые другие варианты осуществления, описанные выше, при условии, что один или несколько атомов в них были заменены атомом или атомами, имеющими атомную массу или массовое число, которое отличается от атомной массы или массового числа атома, который обычно встречается в природе (меченный изотоп). Примеры изотопов, которые коммерчески доступны и подходят для настоящего изобретения, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, фтора и хлора, например,  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{18}\text{F}$  и  $^{36}\text{Cl}$  соответственно.

[0061] Меченные изотопами соединения и соли можно использовать множеством полезных способов. Они могут подходить для лекарственных препаратов и/или различных типов анализов, таких как анализы распределения субстрата в тканях. Например,

соединения, меченные тритием ( $^3\text{H}$ ) и/или углеродом-14 ( $^{14}\text{C}$ ), особенно полезны для различных типов анализов, таких как анализы распределения субстрата в тканях, благодаря относительно простому приготовлению и отличной детектируемости. Например, соединения, меченные дейтерием ( $^2\text{H}$ ), терапевтически полезны с потенциальными терапевтическими преимуществами по сравнению с соединениями, меченными не  $^2\text{H}$ . В целом, соединения и соли, меченные дейтерием ( $^2\text{H}$ ), могут иметь более высокую метаболическую стабильность по сравнению с соединениями, не меченными изотопами, благодаря описанному ниже кинетическому изотопному эффекту. Более высокая метаболическая стабильность напрямую выражается в увеличении периода полужизни *in vivo* или в более низких дозировках, что может быть желательно. Меченные изотопами соединения и соли обычно можно получить, выполняя процедуры, раскрытые в схемах синтеза и в соответствующем описании, в части примеров и в части получения в настоящем тексте, заменяя реагент, не меченный изотопами, на легкодоступный реагент, меченный изотопами.

[0062] В некоторых вариантах осуществления соединения и соли, меченные изотопами, представляют собой соединения, меченные дейтерием ( $^2\text{H}$ ). В некоторых конкретных вариантах осуществления меченные изотопами соединения и соли помечены дейтерием ( $^2\text{H}$ ), где один или более атомов водорода в них заменены дейтерием. В химических структурах дейтерий обозначен «D.»

[0063] Соединения и соли, меченные дейтерием ( $^2\text{H}$ ), могут влиять на окислительный метаболизм соединения посредством первичного кинетического изотопного эффекта. Первичный кинетический изотопный эффект представляет собой изменение скорости химической реакции, которое возникает в результате обмена изотопными ядрами, что, в свою очередь, вызвано изменением энергии основного состояния, необходимой для образования ковалентной связи после этого изотопного обмена. Обмен более тяжелого изотопа обычно приводит к снижению энергии основного состояния химической связи и, таким образом, вызывает подавление скорость-лимитирующего разрыва связи. Если разрыв связи происходит в области седловой точки вдоль координаты реакции с множеством продуктов, или вблизи нее, коэффициенты распределения продуктов могут существенно меняться. Для объяснения: если дейтерий связан с атомом углерода в незаменяемом положении, различия в скорости  $k_M/k_D=2-7$  являются типичными. Для дальнейшего обсуждения см. S. L. Harbeson and R. D. Tung, Deuterium In Drug Discovery and Development, Ann. Rep. Med. Chem. 2011, 46, 403-417, включенную в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[0064] Концентрацию изотопа (изотопов) (например, дейтерия), включенного в меченные изотопами соединения и соль по настоящему изобретению, можно определить с помощью коэффициента изотопного обогащения. Термин «коэффициент изотопного обогащения», используемый в данном документе, означает соотношение между изотопным избытком и природной распространенностью указанного изотопа. В некоторых вариантах осуществления, если заместителем в соединении по настоящему

изобретению указан дейтерий, такое соединение характеризуется коэффициентом изотопного обогащения для каждого обозначенного атома дейтерия, составляющим по меньшей мере 3500 (включение атомов дейтерия составляет 52,5% в положении каждого обозначенного атома дейтерия), по меньшей мере 4000 (включение атомов дейтерия составляет 60%), по меньшей мере 4500 (включение атомов дейтерия составляет 67,5%), по меньшей мере 5000 (включение атомов дейтерия составляет 75%), по меньшей мере 5500 (включение атомов дейтерия составляет 82,5%), по меньшей мере 6000 (включение атомов дейтерия составляет 90%), по меньшей мере 6333,3 (включение атомов дейтерия составляет 95%), по меньшей мере 6466,7 (включение атомов дейтерия составляет 97%), по меньшей мере 6600 (включение атомов дейтерия составляет 99%) или по меньшей мере 6633,3 (включение атомов дейтерия составляет 99,5%).

[0065] При открытии и разработке терапевтических средств специалист в данной области пытается оптимизировать фармакокинетические параметры при сохранении желаемых свойств *in vitro*. Разумно предположить, что многие соединения с плохими фармакокинетическими профилями чувствительны к окислительному метаболизму.

#### **Фармацевтические композиции**

[0066] В другом аспекте настоящего изобретения предусмотрены фармацевтические композиции, содержащие соединение **I** или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере один дополнительный активный фармацевтический ингредиент. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один дополнительный активный фармацевтический ингредиент представляет собой модулятор CFTR. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один дополнительный активный фармацевтический ингредиент представляет собой корректор CFTR. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один дополнительный активный фармацевтический ингредиент представляет собой стимулятор CFTR. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит соединение **I** и по меньшей мере два дополнительных активных фармацевтических ингредиента, один из которых представляет собой корректор CFTR, а другой представляет собой стимулятор CFTR.

[0067] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один дополнительный активный фармацевтический ингредиент выбран из муколитических средств, бронходилататоров, антибиотиков, противомикробных средств и противовоспалительных средств.

[0068] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель.

[0069] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая от 5 мг до 20 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых





приемлемых солей, от 50 мг до 100 мг соединения **II** и от 150 мг до 300 мг соединения **III** или от 50 мг до 150 мг соединения **III-d**. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит приблизительно от 5 мг до 20 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, 100 мг соединения **II** и 150 мг соединения **III** или 150 мг соединения **III-d**.

[0075] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая 5 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, и необязательно содержащая одно или более дополнительных модулирующих CFTR средств. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит приблизительно 10 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, и необязательно содержащая одно или более дополнительных модулирующих CFTR средств. В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая 20 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, и необязательно содержащая одно или более дополнительных модулирующих CFTR средств. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит 5 мг, 10 мг или 20 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, 50 мг или 100 мг соединения **II** и 150 мг или 300 мг соединения **III**, или 50 мг, 75 мг, 100 мг, 125 мг или 150 мг соединения **III-d**.

[0076] Фармацевтическая композиция дополнительно может содержать по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель выбран из фармацевтически приемлемых сред-носителей и фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно фармацевтически приемлемое вещество выбрано из фармацевтически приемлемых наполнителей, разрыхлителей, поверхностно-активных веществ, связующих средств, смазывающих средств.

[0077] Описанные в данном документе фармацевтические композиции полезны для лечения муковисцидоза и других заболеваний, опосредованных CFTR.

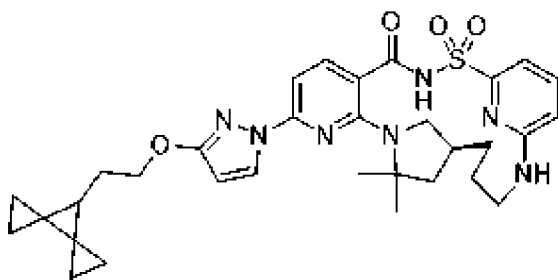
[0078] Как описано выше, фармацевтические композиции, раскрытые в данном документе, необязательно могут дополнительно содержать по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель. По меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель может быть выбран из вспомогательных веществ и сред-носителей. По меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель, применяемый в данном документе, включает все возможные растворители, разбавители, другие жидкие среды-носители, добавки для образования дисперсии, добавки для образования суспензии, поверхностно-активные средства, изотонические средства, загустители, эмульгирующие средства, консерванты, твердые связующие и смазывающие средства, которые подходят

для конкретной желаемой лекарственной формы. В Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st edition, 2005, ed. D.B. Troy, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, и Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, eds. J. Swarbrick and J. C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, New York раскрыты различные носители, применяемые при составлении фармацевтических композиций, и известные методики для их получения. За исключением случаев, когда любой традиционный носитель является несовместимым с соединениями по настоящему изобретению, например, если он обеспечивает любой нежелательный биологический эффект или иначе взаимодействует пагубным образом с любым(любыми) другим(другими) компонентом(компонентами) фармацевтической композиции, его применение предусматривается в пределах объема настоящего изобретения. Неограничивающие примеры подходящих фармацевтически приемлемых носителей включают без ограничения ионообменные вещества, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, сывороточные белки (такие как сывороточный альбумин человека), буферные вещества (такие как фосфаты, глицин, сорбиновая кислота и сорбат калия), смеси неполных глицеридов из насыщенных жирных кислот растительного происхождения, воду, соли и электролиты (такие как сульфат протамина, гидрофосфат динатрия, гидрофосфат калия, хлорид натрия и соли цинка), коллоидный диоксид кремния, трисиликат магния, поливинилпирролидон, полиакрилаты, воски, блок-сополимеры полиэтилена и полиоксипропилена, ланолин, сахара (такие как лактоза, глюкоза и сахароза), виды крахмала (такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал), целлюлозу и ее производные (такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, этилцеллюлоза и ацетилцеллюлоза), порошкообразный трагакант, солод, желатин, тальк, вспомогательные вещества (такие как масло какао и воски для суппозиторий), масла (такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло), гликоли (такие как пропиленгликоль и полиэтиленгликоль), сложные эфиры (такие как этилолеат и этиллаурат), агар, буферные средства (такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия), альгиновую кислоту, апирогенную воду, изотонический солевой раствор, раствор Рингера, этиловый спирт, фосфатные буферные растворы, нетоксичные совместимые смазывающие средства (такие как лаурилсульфат натрия и стеарат магния), красящие средства, разделительные средства, средства для нанесения покрытия, подсластители, вкусовые средства, ароматизирующие средства, консерванты и антиоксиданты.

[0079] Иллюстративные варианты осуществления настоящего изобретения включают:

1. Способ лечения муковисцидоза, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту:

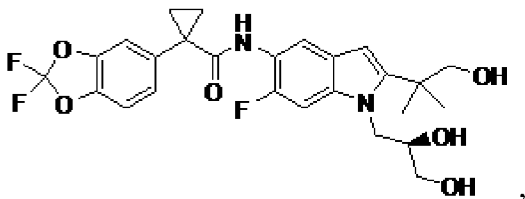
(А) от 5 мг до 20 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I



I

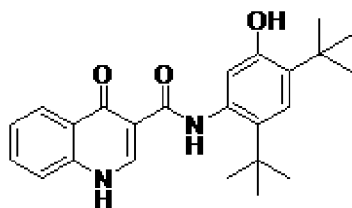
и его фармацевтически приемлемых солей, ежедневно и (B) по меньшей мере одного соединения, выбранного из:

(i) соединения II:



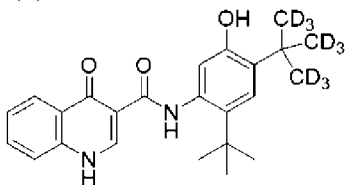
и его фармацевтически приемлемых солей, и

(ii) (a) соединения III:



и его фармацевтически приемлемых солей или

(b) соединения III-d:



и его фармацевтически приемлемых солей.

2. Способ по варианту осуществления 1, включающий введение указанному пациенту:

(A) по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей;

(B) по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей; и

(C) по меньшей мере одного соединения, выбранного из (i) соединения III и его фармацевтически приемлемых солей, или (ii) соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей.

3. Способ по варианту осуществления 1, включающий введение указанному пациенту:

(A) по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его

фармацевтически приемлемых солей;

(B) по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **II** и его фармацевтически приемлемых солей и

(C) по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **III** и его фармацевтически приемлемых солей.

4. Способ по варианту осуществления 1, включающий введение указанному пациенту:

(A) по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей;

(B) по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **II** и его фармацевтически приемлемых солей и

(C) по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **III-d** и его фармацевтически приемлемых солей.

5. Способ по варианту осуществления 1, где по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в одной композиции с по меньшей мере одним соединением, выбранным из соединения **II**, соединения **III**, соединения **III-d** и их фармацевтически приемлемых солей.

6. Способ по варианту осуществления 1, где по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, и по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **II**, соединения **III**, соединения **III-d** и их фармацевтически приемлемых солей, вводят в одной или более отдельных композициях.

7. Способ по варианту осуществления 1, где первую фармацевтическую композицию, содержащую по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в комбинации со второй фармацевтической композицией, содержащей по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **II**, соединения **III**, соединения **III-d** и их фармацевтически приемлемых солей.

8. Способ по варианту осуществления 1, где первую фармацевтическую композицию, содержащую по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в комбинации со второй фармацевтической композицией, содержащей (a) по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **II** и его фармацевтически приемлемых солей; и (b) по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **III**, соединения **III-d** и их фармацевтически приемлемых солей.

9. Способ по варианту осуществления 1, где первую фармацевтическую композицию, содержащую по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в комбинации со второй фармацевтической композицией, содержащей соединение **II** и соединение **III-d**.

10. Способ по варианту осуществления 1, включающий введение одной композиции, содержащей соединение **I** или его фармацевтически приемлемую соль,

соединение **II** и соединение **III-d**.

11. Способ по любому из вариантов осуществления 1-10, где 5 мг, 10 мг или 20 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят ежедневно.

12. Способ по варианту осуществления 11, где соединение **I** или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде одной дозы один раз в день.

13. Способ по варианту осуществления 11, где соединение **I** или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде двух доз ежедневно.

14. Способ по любому из вариантов осуществления 1-11, где 20 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят в виде от одной до четырех доз ежедневно.

15. Способ по любому из вариантов осуществления 1-14, где от 50 мг до 150 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят ежедневно.

16. Способ по варианту осуществления 15, где 50 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли на дозу вводят один раз в день или два раза в день.

17. Способ по любому из вариантов осуществления 1-14, где 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят ежедневно.

18. Способ по варианту осуществления 17, где 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят в виде одной дозы один раз в день.

19. Способ по варианту осуществления 17, где 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят в виде двух доз ежедневно.

20. Способ по любому из вариантов осуществления 1-17, где:

(a) от 150 мг до 300 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят ежедневно; или

(b) от 50 мг до 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят ежедневно.

21. Способ по варианту осуществления 18, где от 150 мг до 300 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят ежедневно.

22. Способ по варианту осуществления 18, где от 50 мг до 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят ежедневно.

23. Способ по варианту осуществления 20, где:

(a) 150 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят два раза в день; или

(b) 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят ежедневно.

24. Способ по варианту осуществления 20, где 150 мг суточного количества

соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят в виде одной, двух или трех доз ежедневно.

25. Способ по варианту осуществления 20, где 300 мг суточного количества соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят в виде одной, двух, трех или четырех доз.

26. Способ лечения муковисцидоза, включающий ежедневное введение нуждающемуся в этом пациенту:

(a) от 5 мг до 20 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли;

(b) от 50 мг до 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли и

(c) (i) от 150 мг до 300 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли; или

(ii) от 50 мг до 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

27. Способ по варианту осуществления 26, где способ включает введение:

(a) 5 мг, 10 мг или 20 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли;

(b) 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли и

(c) (i) 300 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли; или

(ii) 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

28. Способ по варианту осуществления 26, где способ включает введение:

(a) 5 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли;

(b) 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли и

(c) 300 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

29. Способ по варианту осуществления 26, где способ включает введение:

(a) 10 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли;

(b) 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли и

(c) 300 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

30. Способ по варианту осуществления 26, где способ включает введение:

(a) 20 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически

приемлемой соли;

(b) 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли и

(c) 300 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемых солей.

31. Способ по варианту осуществления 26, где способ включает введение:

(a) 5 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли;

(b) 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли и

(c) 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

32. Способ по варианту осуществления 26, где способ включает введение:

(a) 10 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли;

(b) 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли и

(c) 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемых солей.

33. Способ по варианту осуществления 26, где способ включает введение:

(a) 20 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли;

(b) 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли и

(c) 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

34. Способ лечения муковисцидоза, включающий ежедневное введение нуждающемуся в этом пациенту:

(a) первой фармацевтической композиции, содержащей от 5 мг до 20 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли; и

(b) второй фармацевтической композиции ежедневно, содержащей

(i) от 50 до 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли; и

(ii) либо (1) от 150 мг до 300 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли, или (2) от 50 мг до 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

35. Способ по варианту осуществления 34, где способ включает:

(a) ежедневное введение нуждающемуся в этом пациенту первой фармацевтической композиции, содержащей 5 мг, 10 мг или 20 мг соединения **I** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли; и

(b) ежедневное введение пациенту второй фармацевтической композиции, содержащей (i) 100 мг соединения **II** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли; и (ii) 150 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли; и

(c) ежедневное введение пациенту третьей фармацевтической композиции, содержащей 150 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

36. Способ по варианту осуществления 34, где способ включает ежедневное введение нуждающемуся в этом пациенту:

(a) первой фармацевтической композиции, содержащей 5 мг, 10 мг или 20 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли; и

(b) второй фармацевтической композиции, содержащей (i) 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли; и (ii) 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

37. Способ лечения муковисцидоза, включающий ежедневное введение нуждающемуся в этом пациенту первой фармацевтической композиции, содержащей

(a) от 5 мг до 20 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли,

(b) 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли и

(c) 150 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли; и

затем ежедневное введение пациенту второй фармацевтической композиции, содержащей 150 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

38. Способ по любому из вариантов осуществления 1-37, где пациент является гетерозиготным по мутации F508del гена CFTR.

39. Способ по любому из вариантов осуществления 1-37, где пациент является гомозиготным по мутации F508del гена CFTR.

40. Способ по любому из вариантов осуществления 1-39, где способ включает введение фармацевтически приемлемой соли соединения **I**.

41. Способ по любому из вариантов осуществления 1-40, где способ включает введение соединения **II**.

42. Способ по любому из вариантов осуществления 1-3, 5-8, 11-21, 23, 25-30, 34, 35 и 37, где способ включает введение соединения **III**.

43. Способ по любому из вариантов осуществления 1, 2, 4-8, 11-20, 22-24, 26, 27, 31-34 и 36, где способ включает введение соединения **III-d**.

44. Фармацевтическая композиция, содержащая от 5 мг до 20 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли, и необязательно содержащая одно или более дополнительных модулирующих CFTR средств.



45. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления 44, дополнительно содержащая:

(a) от 50 до 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли и

(b) (i) от 150 мг до 300 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли или

(ii) от 50 мг до 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

46. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления 44, дополнительно содержащая:

(a) 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли и

(b) (i) 150 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли или

(ii) 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

47. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления 44, дополнительно содержащая:

(a) 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли и

(b) 150 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

48. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления 44, дополнительно содержащая:

(a) 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли и

(b) 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

49. Фармацевтическая композиция по любому из вариантов осуществления 44-48, где композиция содержит 5 мг, 10 мг или 20 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

### **Способы получения соединений**

#### **Общий порядок проведения эксперимента**

[0080] Реагенты и исходные материалы получали из коммерческих источников, если не указано иное, и использовали без очистки. ЯМР-спектры протонов и углерода получали либо на FTNMR-спектрометре Bruker Biospin DRX 400 МГц, работающем при резонансной частоте  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  400 и 100 МГц соответственно, либо на ЯМР-спектрометре 300 МГц. Одномерные протонные и углеродные спектры получали с использованием широкополосного зонда для наблюдения (BBFO) с вращением образца при 20 Гц с цифровым разрешением 0,1834 и 0,9083 Гц/точку соответственно. Все протонные и

углеродные спектры получали с контролем температуры при 30°C с использованием стандартных, ранее опубликованных последовательностей импульсов и общепринятых параметров обработки. Конечную чистоту соединений определяли методом UPLC с обращенной фазой с использованием колонки C<sub>18</sub> Acquity UPLC BEH (50 × 2,1 мм, частицы 1,7 мкм), изготовленной Waters (номер по каталогу: 186002350), и хроматографии с двойным градиентом от 1% до 99% подвижной фазы В в течение 3,0 минут. Подвижная фаза А=Н<sub>2</sub>О (0,05% CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H). Подвижная фаза В=СН<sub>3</sub>CN (0,035% CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H). Скорость потока=1,2 мл/мин, объем впрыска=1,5 мкл и температура колонки=60°C. Конечную чистоту рассчитывали путем усреднения площади под кривой (AUC) двух УФ-кривых (220 нм, 254 нм). Масс-спектры низкого разрешения получали с использованием одноквадрупольного масс-спектрометра с точностью измерения массы 0,1 Да и минимальным разрешением 1000 а.е.м. в диапазоне обнаружения с помощью электрораспылительной ионизации (ESI) с использованием иона водорода (H<sup>+</sup>). Оптическую чистоту метил (2S)-2,4-диметил-4-нитропентаноата определяли с помощью анализа методом хиральной газовой хроматографии (GC) на приборе Agilent 7890A/MSD 5975C с использованием колонки Restek Rt-βDEXcst (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм\_толщина пленки) со скоростью потока 2,0 мл/мин (газ-носитель Н<sub>2</sub>), при температуре впрыска 220°C и температуре термостата 120°C, 15 минут. Чистоту соединения I определяли с помощью HPLC с обращенной фазой с использованием колонки Poroshell 120 EC-C8 (4,6 × 150 мм, частицы 2,7 мкм) и хроматографии с двойным градиентом от 30% до 95% подвижной фазы В в течение 40 минут. Подвижная фаза А=5 мМ аммония ацетата, рН=4,50 и подвижная фаза В=ацетонитрил. Скорость потока=1,0 мл/мин, объем впрыска=5 мкл, 254 нм и температура колонки=30 °С.

[0081] Соединения II, III, III-d и IV можно получать любым подходящим способом из уровня техники, например, в соответствии с публикациями согласно РСТ под номерами WO 2011/133751, WO 2011/133951, WO 2015/160787 и патентом США № 8865902.

**Пример 1: Синтез (14S)-8-[3-(2-{диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил}этокси)-1H-пирозол-1-ил]-12,12-диметил-2λ6-тиа-3,9,11,18,23-пентаазатетрацикло [17.3.1.111,14.05,10]тетракоза-1(22),5,7,9,19(23),20-гексаен-2,2,4-триона (соединение I)**

**Общие аналитические способы на основе UPLC/HPLC:**

[0082] Если не указано иное, выходы энантиомеров, разделенных с помощью хиральной SFC, даны в процентах от теоретического выхода для одного энантиомера рацемата.

[0083] **Способ А на основе LC:** Аналитическая UPLC с обращенной фазой с использованием колонки C<sub>18</sub> Acquity UPLC BEH (30 × 2,1 мм, частицы 1,7 мкм), изготовленной Waters (номер по каталогу: 186002349), и хроматографии с двойным градиентом от 1% до 99% подвижной фазы В в течение 1,2 минуты. Подвижная фаза А=вода (0,05% трифторуксусная кислота). Подвижная фаза В=ацетонитрил (0,035%

трифторуксусная кислота). Скорость потока=1,5 мл/мин, объем впрыска=1,5 мкл и температура колонки=60 °С.

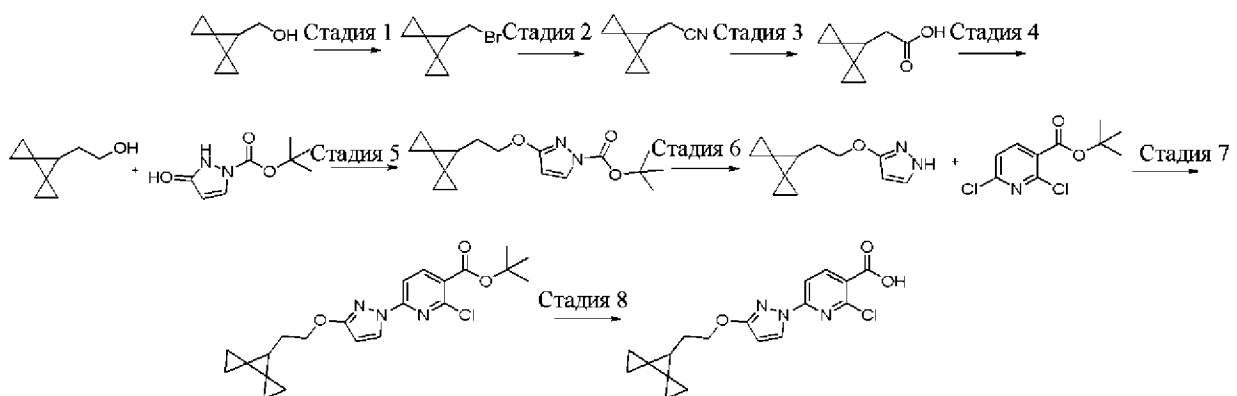
[0084] **Способ В на основе LC:** Аналитическая UPLC с обращенной фазой с использованием колонки C<sub>18</sub> Acquity UPLC BEH (50 × 2,1 мм, частицы 1,7 мкм), изготовленной Waters (номер по каталогу: 186002350), и хроматографии с двойным градиентом от 1% до 99% подвижной фазы В в течение 3,0 минут. Подвижная фаза А=вода (0,05% трифторуксусная кислота). Подвижная фаза В=ацетонитрил (0,035% трифторуксусная кислота). Скорость потока=1,2 мл/мин, объем впрыска=1,5 мкл и температура колонки=60°С.

[0085] **Способ D на основе LC:** Аналитическая UPLC с обращенной фазой с использованием колонки C<sub>18</sub> Acquity UPLC BEH (50 × 2,1 мм, частицы 1,7 мкм), изготовленной Waters (номер по каталогу: 186002350), и хроматографии с двойным градиентом от 1% до 99% подвижной фазы В в течение 5,0 минут. Подвижная фаза А=вода (0,05% трифторуксусная кислота). Подвижная фаза В=ацетонитрил (0,035% трифторуксусная кислота). Скорость потока=1,2 мл/мин, объем впрыска=1,5 мкл и температура колонки=60°С.

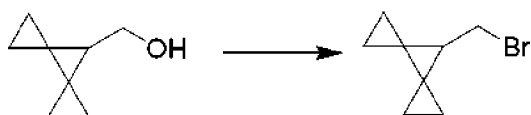
[0086] **Способ F на основе LC:** Аналитическая UPLC с обращенной фазой с использованием колонки C<sub>18</sub> Acquity UPLC BEH (50 × 2,1 мм, частицы 1,7 мкм), изготовленной Waters (номер по каталогу: 186002350), и хроматографии с двойным градиентом от 1% до 99% подвижной фазы В в течение 15,0 минут. Подвижная фаза А=вода (0,05% трифторуксусная кислота). Подвижная фаза В=ацетонитрил (0,035% трифторуксусная кислота). Скорость потока=1,2 мл/мин, объем впрыска=1,5 мкл и температура колонки=60°С.

[0087] **Способ Q на основе LC:** Колонка C<sub>18</sub> Merckmillipore Chromolith SpeedROD (50×4,6 мм) и хроматография с двойным градиентом от 5% до 100% подвижной фазы В в течение 12 минут. Подвижная фаза А=вода (0,1% трифторуксусная кислота). Подвижная фаза В=ацетонитрил (0,1% трифторуксусная кислота).

**Часть А: Синтез 2-хлор-6-[3-(2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этокси)пиразол-1-ил]пиридин-3-карбоновой кислоты**



**Стадия 1: 7-(Бромметил)диспиро[2.0.2.1]гептан**



[0088] Трехгорлую круглодонную колбу объемом 1000 мл снабжали механической мешалкой, охлаждающей баней, капельной воронкой, датчиком температуры J-Kem и впускным/выпускным отверстием для азота. В сосуд в атмосфере азота загружали трифенилфосфин (102,7 мл, 443,2 ммоль) и дихлорметан (1 л), что давало прозрачный бесцветный раствор. Начинали перемешивание и в охлаждающую баню загружали ацетон. Сухой лед добавляли порциями в охлаждающую баню до достижения температуры емкости, составляющей  $-15^{\circ}\text{C}$ . В капельную воронку загружали раствор брома (22,82 мл, 443,0 ммоль) в дихлорметане (220 мл, 10 мл/г), который затем добавляли по каплям в течение 1 часа. Сухой лед добавляли порциями в охлаждающую баню во время добавления для поддержания температуры емкости на уровне  $-15^{\circ}\text{C}$ . После завершения добавления брома бледно-желтую суспензию продолжали перемешивать при  $-15^{\circ}\text{C}$  в течение 15 минут, после чего суспензию охлаждали до  $-30^{\circ}\text{C}$ . В капельную воронку загружали раствор диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-метанола (50 г, 402,6 ммоль), пиридина (35,82 мл, 442,9 ммоль) и дихлорметана (250 мл, 5 мл/г). Затем прозрачный бледно-желтый раствор добавляли по каплям в течение 1,5 часа, поддерживая температуру емкости при  $-30^{\circ}\text{C}$ . Полученной прозрачной светло-желтой реакционной смеси давали постепенно нагреться до температуры емкости  $-5^{\circ}\text{C}$ , а затем продолжали перемешивать при  $-5^{\circ}\text{C}$  в течение 1 часа. Затем реакционную смесь выливали в гексан (2000 мл), что приводило к образованию осадка. Суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут, а затем фильтровали через воронку Бюхнера со стеклянной фриттой со слоем целита 20 мм. Прозрачный фильтрат концентрировали при пониженном давлении (температура водяной бани  $20^{\circ}\text{C}$ ) с получением желтого масла с некоторым присутствием осадка. Масло разбавляли небольшим количеством гексана, оставляли при комнатной температуре на 15 минут и затем фильтровали через воронку Бюхнера со стеклянной фриттой со слоем целита 20 мм. Прозрачный фильтрат концентрировали при пониженном давлении (температура водяной бани  $20^{\circ}\text{C}$ ) с получением 7-(бромметил)диспиро[2.0.2.1]гептана (70 г, 93%) в виде прозрачного желтого масла.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, хлороформ-d)  $\delta$  3,49 (d,  $J=7,5$  Гц, 2H), 1,90 (t,  $J=7,5$  Гц, 1H), 1,06-0,84 (m, 4H), 0,71 (ddd,  $J=9,1, 5,1, 4,0$  Гц, 2H), 0,54 (dddd,  $J=8,6, 4,8, 3,8, 1,0$  Гц, 2H).

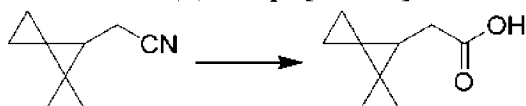
**Стадия 2: 2-Диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-ацетонитрил**



[0089] Трехгорлую круглодонную колбу объемом 1000 мл снабжали механической мешалкой, охлаждающей баней, используемой в качестве вторичной защитной оболочки, датчиком температуры J-Kem и впускным/выпускным отверстием для азота. В сосуд в атмосфере азота загружали 7-(бромметил)диспиро[2.0.2.1]гептан (35 г, 187,1 ммоль) и

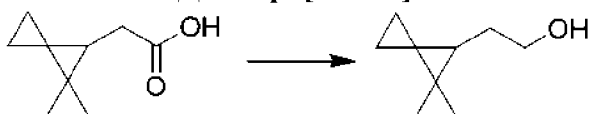
диметилсульфоксид (245 мл), что давало прозрачный раствор янтарного цвета. Начинали перемешивание и регистрировали температуру в емкости на уровне 19°C. Затем в сосуд загружали цианид натрия (11,46 г, 233,8 ммоль), добавленный в виде твердого вещества одной порцией, что приводило к образованию темного раствора и постепенному экзотермическому нагреву до 49°C в течение 15 минут. Через несколько минут температура в емкости начинала снижаться, и смесь продолжали перемешивать при комнатной температуре в течение ночи (приблизительно 15 часов). Темную реакционную смесь гасили ледяным насыщенным раствором карбоната натрия (500 мл), затем переносили в делительную воронку и разделяли с помощью диэтилового эфира (500 мл). Органический слой удаляли, а оставшийся водный слой экстрагировали диэтиловым эфиром (2 X 250 мл). Объединенные органические слои промывали водой (500 мл), сушили над сульфатом натрия (200 г) и затем фильтровали через воронку Бюхнера со стеклянной фриттой. Прозрачный фильтрат янтарного цвета концентрировали при пониженном давлении (температура водяной бани 20°C) с получением 2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-ацетонитрила (21 г, 84%) в виде прозрачного масла темно-янтарного цвета. 1H ЯМР (400 МГц, хлороформ-d)  $\delta$  2,42 (d, J=6,6 Гц, 2H), 1,69 (t, J=6,6 Гц, 1H), 1,02-0,88 (m, 4H), 0,79-0,70 (m, 2H), 0,66-0,55 (m, 2H).

### Стадия 3: 2-Диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-уксусная кислота



[0090] К раствору 2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-ацетонитрила (2,1 г, 14,19 ммоль) в EtOH (32 мл) добавляли гидроксид натрия (5,12 г, 128,0 ммоль), затем воду (13 мл) и полученный раствор перемешивали и нагревали до 70°C в течение ночи. Затем смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли водой и экстрагировали диэтиловым эфиром. Водную фазу доводили до pH=1 добавлением 6 н хлористоводородной кислоты (в результате чего образовывался мутный осадок) и экстрагировали диэтиловым эфиром (3X). Органические фазы сушили (сульфатом магния), фильтровали и концентрировали с получением 2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-уксусной кислоты (2,19 г, выход 99%, чистота 98%) в виде оранжевого твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. 1H ЯМР (400 МГц, хлороформ-d)  $\delta$  2,44 (d, J=6,9 Гц, 2H), 1,67 (t, J=6,9 Гц, 1H), 0,91 (ddd, J=9,0, 5,2, 3,9 Гц, 2H), 0,81 (dddd, J=8,9, 5,2, 3,9, 0,5 Гц, 2H), 0,69 (ddd, J=8,9, 5,2, 3,9 Гц, 2H), 0,56-0,44 (m, 2H).

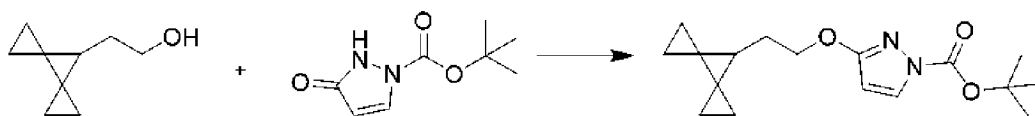
### Стадия 4: 2-Диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этанол



[0091] К алюмогидриду лития (827,4 мг, 902,3 мкл, 21,80 ммоль), растворенному в тетрагидрофуране (33,71 мл), охлажденному на бане лед/вода, добавляли 2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-уксусную кислоту (2,552 г, 16,77 ммоль) в тетрагидрофуране

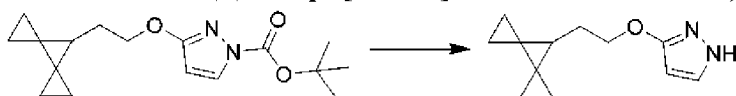
(7,470 мл) по каплям в течение 15 минут, поддерживая температуру реакции  $< 20^{\circ}\text{C}$ . Смеси давали перемешиваться в общей сложности 18 ч, постепенно нагревая до температуры окружающей среды. Смесь охлаждали баней лед/вода и последовательно гасили медленным добавлением воды (838,4 мг, 838,4 мкл, 46,54 ммоль), затем гидроксида натрия (1,006 мл 5 М, 5,031 ммоль), затем воды (2,493 г, 2,493 мл, 138,4 ммоль) с получением белой гранулированной суспензии, которую фильтровали через целит. Отфильтрованное твердое вещество промывали диэтиловым эфиром. Фильтрат концентрировали *in vacuo* при  $\sim 300$  мбар и  $30^{\circ}\text{C}$  на водяной бане. Остаток разбавляли диэтиловым эфиром, сушили (сульфатом магния), фильтровали и концентрировали *in vacuo* при  $\sim 300$  мбар и водяной бане  $30^{\circ}\text{C}$ , а затем  $\sim 30$  секунд в вакууме с получением 2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этанола (2,318 г, 100%), который использовали непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, хлороформ- $d$ )  $\delta$  3,64 (s, 2H), 1,68 (d,  $J=6,7$  Гц, 2H), 1,39 (s, 1H), 1,31 (s, 1H), 0,82 (d,  $J=14,0$  Гц, 4H), 0,65 (s, 2H), 0,50 (d,  $J=3,6$  Гц, 2H).

**Стадия 5: *трет*-Бутил 3-(2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этокси)пиразол-1-карбоксилат**



[0092] К раствору *трет*-бутил 5-оксо-1H-пиразол-2-карбоксилата (2,942 г, 15,97 ммоль) и 2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этанола (2,318 г, 16,77 ммоль) в тетрагидрофуране (36,78 мл) добавляли трифенилфосфин (4,399 г, 16,77 ммоль). К смеси медленно по каплям в течение 10 минут добавляли диизопропилазодикарбоксилат (3,391 г, 3,302 мл, 16,77 ммоль) (отмечался умеренный экзотермический нагрев). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут, затем при  $50^{\circ}\text{C}$  в течение 30 минут. Тетрагидрофуран удаляли *in vacuo*. К неочищенному остатку добавляли толуол (23,54 мл) и смесь перемешивали в течение ночи, пока осадок постепенно кристаллизовался. После суспендирования в целите осадок отфильтровывали и промывали толуолом (8,705 мл) и снова толуолом (8,705 мл). Фильтрат концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали хроматографией на силикагеле, используя пологий градиент от 100% гексанов до 100% этилацетата, с получением *трет*-бутил 3-(2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этокси)пиразол-1-карбоксилата (3,449 г, 71%). Значение  $m/z$  ESI-MS расчетное 304,17868, установленное 305,1 ( $M+1$ ) $^+$ ; время удерживания: 0,82 мин (способ А на основе LC).

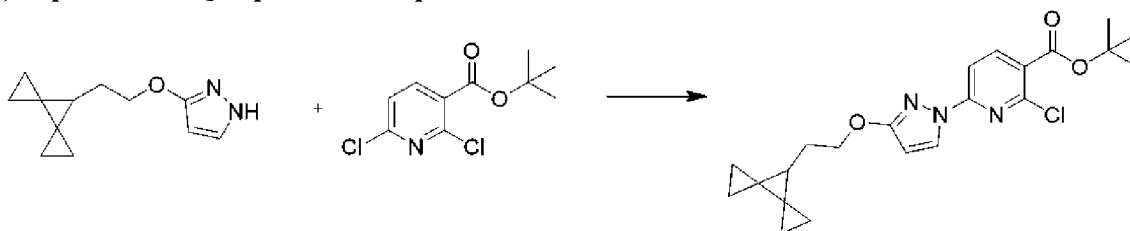
**Стадия 6: 3-(2-Диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этокси)-1H-пиразол**



[0093] *трет*-Бутил 3-(2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этокси)пиразол-1-карбоксилат (5,304 г, 17,43 ммоль) растворяли в дихлорметане (53,04 мл) с трифторуксусной кислотой (29,81 г, 20,14 мл, 261,4 ммоль), и реакционную смесь перемешивали при комнатной

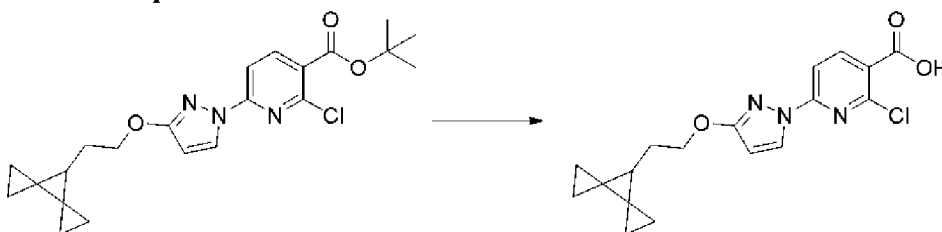
температуре в течение 120 минут. Реакционную смесь упаривали и полученное масло разделяли между этилацетатом и насыщенным раствором бикарбоната натрия, и слои отделяли. Водную часть экстрагировали еще два раза этилацетатом, затем органические слои объединяли, промывали рассолом, сушили над сульфатом натрия, фильтровали и упаривали с получением масла, 3-(2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этоксипиразол-1-ил)пиридин-3-карбоксилат (3,56 г, 100%). Значение  $m/z$  ESI-MS расчетное 204,12627, установленное 205,1 (M+1)+; время удерживания: 0,59 мин (способ А на основе LC).

**Стадия 7: трет-Бутил 2-хлор-6-[3-(2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этоксипиразол-1-ил)пиридин-3-карбоксилат**



[0094] *tert*-Бутил 2,6-дихлорпиридин-3-карбоксилат (4,322 г, 17,42 ммоль), 3-(2-диспиро [2.0.2.1]гептан-7-ил-этоксипиразол-1-ил)пиридин-3-карбоксилат (3,559 г, 17,42 ммоль) и карбонат калия (2,891 г, 20,92 ммоль) объединяли в безводном диметилсульфоксиде (71,18 мл). Добавляли 1,4-диазабицикло[2.2.2]октан (391,1 мг, 3,487 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере азота в течение 16 часов. Реакционную смесь разбавляли водой (136,9 мл) и перемешивали в течение 15 минут. Полученное белое твердое вещество фильтровали и промывали водой. Твердое вещество растворяли в дихлорметане и сушили над сульфатом магния. Смесь фильтровали и упаривали с получением *tert*-бутил 2-хлор-6-[3-(2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этоксипиразол-1-ил)пиридин-3-карбоксилата (5,69 г, 79%) в виде белого твердого вещества. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*)  $\delta$  8,35 (d, J=2,9 Гц, 1H), 8,18 (d, J=8,4 Гц, 1H), 7,69 (d, J=8,4 Гц, 1H), 5,94 (d, J=2,9 Гц, 1H), 4,25 (s, 2H), 1,90 (d, J=6,8 Гц, 2H), 1,62 (s, 9H), 1,49 (t, J=6,6 Гц, 1H), 0,85 (d, J=1,5 Гц, 4H), 0,65 (d, J=1,5 Гц, 2H), 0,52 (d, J=1,1 Гц, 2H). Значение  $m/z$  ESI-MS расчетное 415,16626, установленное 360,0 (M-tBu)+; время удерживания: 2,09 мин (способ В на основе LC).

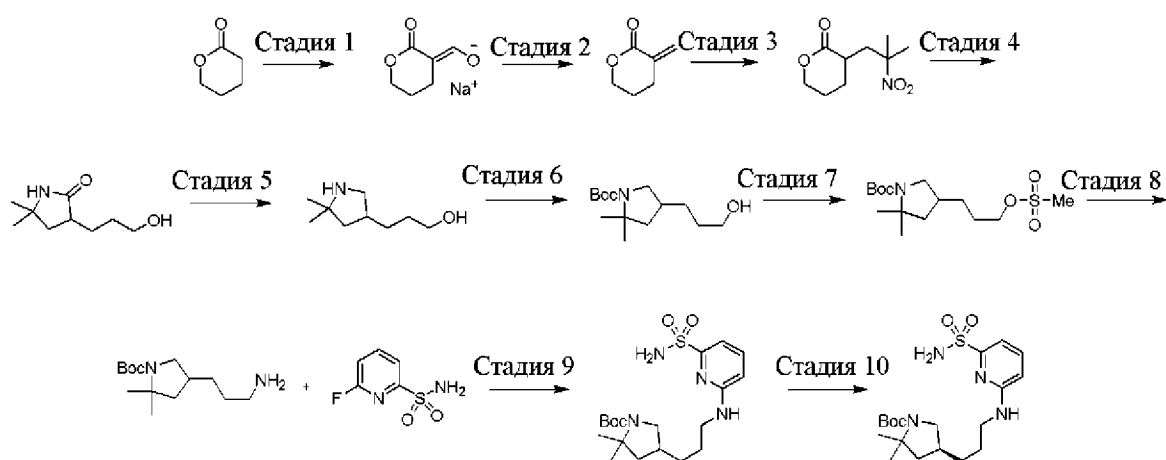
**Стадия 8: 2-Хлор-6-[3-(2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этоксипиразол-1-ил)пиридин-3-карбоновая кислота**



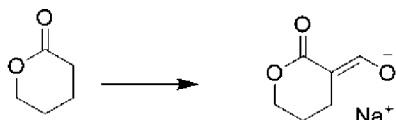
[0095] *tert*-Бутил 2-хлор-6-[3-(2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этоксипиразол-1-ил)пиридин-3-карбоксилат (5,85 г, 14,07 ммоль) растворяли в дихлорметане (58,5 мл) с трифторуксусной кислотой (16,26 мл, 211,1 ммоль), и реакционную смесь перемешивали

при комнатной температуре в течение 16 часов. Реакционную смесь упаривали и к образовавшемуся твердому веществу добавляли эфир, а затем удаляли эфир при пониженном давлении. Это выпаривание из эфира повторяли еще дважды с получением белого твердого вещества, 2-хлор-6-[3-(2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этокси)пиразол-1-ил]пиридин-3-карбоновой кислоты (5,06 г, 100%). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 8,41 (d, J=8,5 Гц, 1H), 8,37 (d, J=2,9 Гц, 1H), 7,75 (d, J=8,5 Гц, 1H), 5,97 (d, J=2,9 Гц, 1H), 4,27 (s, 2H), 1,91 (d, J=6,7 Гц, 2H), 1,50 (s, 1H), 0,85 (d, J=1,5 Гц, 4H), 0,71-0,62 (m, 2H), 0,52 (d, J=1,1 Гц, 2H). Значение m/z ESI-MS расчетное 359,10367, установленное 360,2 (M+1)+; время удерживания: 2,16 мин (способ В на основе LC).

**Часть В: Синтез *трет*-Бутил (4S)-2,2-диметил-4-[3-[(6-сульфамойл-2-пиридил)амино]пропил]пирролидин-1-карбоксилата**



**Стадия 1: (Е)-(2-Оксотетрагидропиран-3-илиден)метанолат (натриевая соль)**



[0096] Трехгорлую круглодонную колбу объемом 5 л снабжали механической мешалкой, колбонагревателем, капельной воронкой, датчиком/контроллером температуры J-Кет и впускным/выпускным отверстием для азота. В сосуд в атмосфере азота загружали гидрид натрия (59,91 г, 60% вес./вес., 1,498 моль), а затем гептан (1,5 л), что давало серую суспензию. Начинали перемешивание и регистрировали температуру в емкости на уровне 19°C. Затем в сосуд загружали этиловый спирт (3,451 г, 74,91 ммоль), добавляемый *через* шприц, что приводило к выделению газа. В капельную воронку загружали прозрачный бледно-желтый раствор тетрагидропиран-2-она (150 г, 1,498 моль) и этилформиата (111 г, 1,50 моль). Раствор добавляли по каплям в течение 1 ч, что приводило к выделению газа и постепенному экзотермическому нагреву до 45°C. Затем полученную густую белую суспензию нагревали до 65°C в течение 2 часов, а затем давали остыть до комнатной температуры. Смесь продолжали перемешивать при комнатной температуре в течение ночи (приблизительно 10 ч). Реакционную смесь фильтровали под вакуумом через воронку Бюхнера со стеклянной фриттой (средняя пористость) в токе азота. Осадок на



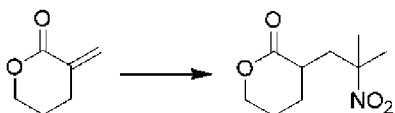
фильтре промывали с вытеснением гептаном (2 X 250 мл) и вытягивали в течение нескольких минут. Влажный осадок с небольшим содержанием гептана переносили на стеклянный поддон и сушили в вакуумном сушильном шкафу при 45°C в течение 15 часов с получением белого твердого вещества (205 г, 1,36 моль, выход 91%) в качестве желаемого продукта, (Е)-(2-оксотетрагидропиран-3-илиден)метанолата (натриевая соль).

### Стадия 2: 3-Метилентетрагидропиран-2-он



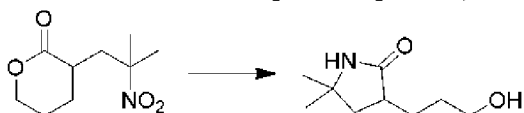
[0097] Трехгорлую круглодонную колбу объемом 5 л снабжали механической мешалкой, колбонагревателем, капельной воронкой, датчиком/контроллером температуры J-Кем и впускным/выпускным отверстием для азота. В сосуд загружали в атмосфере азота (Е)-(2-оксотетрагидропиран-3-илиден)метанолат (натриевую соль) (205 г, 1,366 моль) (205 г, 1,366 моль) и тетрагидрофуран (1640 мл), что давало белую суспензию. Начинали перемешивание и регистрировали температуру в емкости на уровне 19°C. Затем в сосуд загружали параформальдегид (136,6 г, 4,549 моль), добавляемый в виде твердого вещества одной порцией. Полученную суспензию нагревали до 63°C и условия поддерживали в течение 15 часов. При нагревании реакционная смесь становилась слегка гелеобразной. Белую гелеобразную смесь концентрировали при пониженном давлении для удаления большей части тетрагидрофурана. Оставшийся остаток разделяли с помощью этилацетата (1000 мл), насыщенного хлорида натрия (500 мл) и насыщенного гидрокарбоната натрия (500 мл) в делительной воронке. Органический слой удаляли, а оставшийся водный слой экстрагировали этилацетатом (5 X 300 мл). Объединенные органические слои сушили над сульфатом натрия (500 г) и затем фильтровали в вакууме через воронку Бюхнера из стеклянной фритты со слоем целита 20 мм. Осадок на фильтре промывали с вытеснением этилацетатом (250 мл). Прозрачный фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением прозрачного бледно-желтого масла (135 г) в качестве желаемого неочищенного продукта. Материал очищали методом флэш-хроматографии на колонке с силикагелем (жидкая загрузка), элюируя градиентом от 100% гексана до 60% этилацетата в гексане в течение 1 часа, собирая фракции по 450 мл. Продукт детектировали с помощью анализа TLC на силикагеле, элюируя смесью гексан/этилацетат 3:1, и визуализировали под УФ. Фракции продукта объединяли и концентрировали при пониженном давлении с получением прозрачного бесцветного масла (132 г, 1,18 моль, выход 72% с содержанием 16 вес. % остаточного этилацетата по данным ЯМР) в качестве желаемого продукта, 3-метилентетрагидропиран-2-она. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, диметилсульфоксид-d<sub>6</sub>) δ 6,18 (q, J=1,9 Гц, 1H), 5,60 (q, J=1,9 Гц, 1H), 4,40-4,26 (m, 2H), 2,61 (ddt, J=7,0, 6,3, 2,0 Гц, 2H), 1,90-1,75 (m, 2H).

### Стадия 3: 3-(2-Метил-2-нитро-пропил)тетрагидропиран-2-он



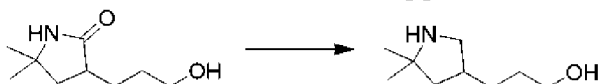
[0098] Трехгорлую круглодонную колбу объемом 5000 мл снабжали механической мешалкой, охлаждающей баней, используемой в качестве вторичной защитной оболочки, датчиком температуры J-Kem, капельной воронкой и впускным/выпускным отверстием для азота. В сосуд в атмосфере азота загружали 2-нитропропан (104,9 г, 1,177 моль). Начинали перемешивание и регистрировали температуру в емкости на уровне 19°C. Затем в сосуд загружали 1,8-диазацикло[5.4.0]ундец-7-ен (22,41 г, 147,2 ммоль), добавляемый в чистом виде одной порцией, в результате чего получали прозрачный светло-желтый раствор. Экзотермического нагрева не наблюдалось. В капельную воронку загружали раствор 3-метилентетрагидропиран-2-она (110 г, 981,0 ммоль) в ацетонитриле (1100 мл), который добавляли по каплям в течение 1 часа, что приводило к получению прозрачного светло-желтого раствора и постепенному экзотермическому нагреву до 24°C. Реакционную смесь продолжали перемешивать при комнатной температуре в течение 3,5 ч, а затем концентрировали при пониженном давлении. Оставшийся остаток растворяли в дихлорметане (1000 мл) и разделяли с помощью 500 мл смеси 3:2 1-молярного раствора лимонной кислоты/насыщенного раствора хлорида натрия. Полученная органическая фаза представляла собой прозрачный бледно-голубой раствор, а водная фаза представляла собой слегка мутный очень бледный голубой раствор. Органический слой удаляли, а оставшийся водный слой экстрагировали дихлорметаном (300 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным раствором хлорида натрия (300 мл), сушили над сульфатом натрия (250 г) и затем фильтровали через воронку Бюхнера со стеклянной фриттой. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении до объема приблизительно 200 мл. Прозрачный бледно-голубой раствор дихлорметана разбавляли метил-*трет*-бутиловым эфиром (1500 мл) и мутный раствор концентрировали при пониженном давлении до объема приблизительно 200 мл с получением суспензии. Смесь снова разбавляли метил-*трет*-бутиловым эфиром (1500 мл) и концентрировали при пониженном давлении до объема приблизительно 250 мл. Полученную суспензию оставляли на ночь при комнатной температуре (приблизительно 12 ч). Твердое вещество собирали при помощи вакуумной фильтрации на воронке Бюхнера со стеклянной фриттой, осадок на фильтре промывали с вытеснением холодным метил-*трет*-бутиловым эфиром (2 X 150 мл), а затем вытягивали в течение 30 минут. Материал дополнительно сушили в вакуумном сушильном шкафу при 45°C в течение 5 часов с получением (160 г, 0,795 моль, выход 81%) белого твердого вещества в качестве желаемого продукта, 3-(2-метил-2-нитропропил)тетрагидропиран-2-он. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, диметилсульфоксид-d<sub>6</sub>) δ 4,34 (ddd, J=11,1, 9,3, 4,3 Гц, 1H), 4,20 (dt, J=11,1, 5,1 Гц, 1H), 2,75-2,62 (m, 1H), 2,56 (dd, J=14,9, 5,2 Гц, 1H), 2,01-1,89 (m, 2H), 1,89-1,67 (m, 2H), 1,55 (d, J=6,0 Гц, 6H), 1,44 (dddd, J=12,8, 11,5, 8,1, 6,6 Гц, 1H).

**Стадия 4: 3-(3-Гидроксипропил)-5,5-диметил-пирролидин-2-он**



[0099] Трехгорлую круглодонную колбу объемом 1000 мл снабжали тефлоновым магнитным мешальником, колбонагревателем, датчиком/контроллером температуры J-Кет и резиновыми прокладками. В сосуд загружали 3-(2-метил-2-нитропропил)тетрагидропиран-2-он (25 г, 124,2 ммоль) и этиловый спирт (375 мл), что давало белую суспензию. Начинали перемешивание и суспензию нагревали до 40°C в течение 10 минут, что давало прозрачный бесцветный раствор. Затем сосуд снабжали трубкой для диспергирования газа и раствор дегазировали азотом в течение 15 минут. Затем в сосуд загружали никель Ренея (8,019 г, 50% вес./вес., 68,31 ммоль), и затем сосуд снабжали прокладками. Сосуд вакуумировали и помещали в атмосферу водорода. Процесс повторяли в течение трех циклов. Затем сосуд помещали в атмосферу водорода с давлением 1 ат и реакционную смесь постепенно нагревали до 60°C. Реакционную смесь продолжали перемешивать при 60°C в течение 24 часов. После охлаждения до комнатной температуры сосуд снабжали трубкой для диспергирования газа и реакционную смесь дегазировали азотом в течение 15 минут. Смесь фильтровали под вакуумом через воронку Бюхнера со стеклянной фриттой со слоем целита 20 мм. Осадок на фильтре промывали с вытеснением этанолом (2 X 100 мл) и вытягивали до тех пор, пока он слегка не смачивался этиловым спиртом, затем смачивали водой, и использованный никелевый катализатор Ренея сливали под водой. Прозрачный фильтрат бледно-янтарного цвета концентрировали при пониженном давлении до прозрачного вязкого масла светло-янтарного цвета. Масло разбавляли метил-трет-бутиловым эфиром (1500 мл) и мутный раствор концентрировали при пониженном давлении до объема приблизительно 150 мл с получением суспензии. Смесь снова разбавляли метил-трет-бутиловым эфиром (1500 мл) и концентрировали при пониженном давлении до объема приблизительно 150 мл. Полученную суспензию оставляли на ночь при комнатной температуре (приблизительно 12 ч). Твердое вещество собирали при помощи вакуумной фильтрации на воронке Бюхнера со стеклянной фриттой, осадок на фильтре промывали с вытеснением холодным метил-трет-бутиловым эфиром (2 X 50 мл) и затем вытягивали в течение 30 минут. Материал дополнительно сушили в вакуумном сушильном шкафу при 45°C в течение 3 часов с получением белого твердого вещества (19 г, 0,111 моль, выход 89%) в качестве продукта, 3-(3-гидроксипропил)-5,5-диметил-пирролидин-2-она. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, диметилсульфоксид-d<sub>6</sub>) δ 7,63 (s, 1H), 3,38 (t, J=6,5 Гц, 2H), 2,37 (tdd, J=9,8, 8,5, 4,4 Гц, 1H), 2,02 (dd, J=12,3, 8,6 Гц, 1H), 1,72 (tdd, J=9,6, 7,5, 4,4 Гц, 1H), 1,52-1,32 (m, 3H), 1,28-1,03 (m, 7H).

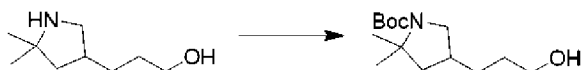
**Стадия 5: 3-(5,5-Диметилпирролидин-3-ил)пропан-1-ол**



[00100] Трехгорлую круглодонную колбу объемом 5 л снабжали механической мешалкой, колбонагревателем, капельной воронкой, датчиком/контроллером температуры J-Кет и впускным/выпускным отверстием для азота. В сосуд загружали в атмосфере азота гранулы алюмогидрида лития (19,39 г, 510,9 ммоль). Затем в сосуд загружали

тетрагидрофуран (500 мл, 20 мл/г). Начинали перемешивание и регистрировали температуру в емкости на уровне 20°C. Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 0,5 ч, чтобы дать гранулам раствориться. Температура в емкости с полученной серой суспензией составляла 24°C. В капельную воронку загружали раствор 3-(3-гидроксипропил)-5,5-диметилпирролидин-2-она (25 г, 146,0 ммоль) в тетрагидрофуране (500 мл) и по каплям добавляли прозрачный бледно-желтый раствор в течение 90 минут. Для достижения однородности требовалось небольшое нагревание. После завершения добавления температура в емкости с полученной сероватой суспензии составляла 24°C. Затем смесь нагревали до температуры в емкости 65°C и условия поддерживали в течение 72 часов. Анализ реакционной смеси на этом этапе показал, что все еще остается некоторое количество остаточного исходного материала и отсутствуют изменения в образовании продукта. Впоследствии реакцию останавливали на этом этапе. Колбонагреватель удаляли и сосуд снабжали охлаждающей баней. Суспензию охлаждали до 0°C с помощью охлаждающей бани со смесью колотый лед/вода, а затем гасили очень медленным добавлением воды по каплям (19,93 мл), после чего 15 вес. % раствора гидроксида натрия (19,93 мл) и затем, наконец, воды (59,79 мл). Температура емкости с полученной белой суспензией составляла 5°C. Охлаждающую баню удаляли и сосуд снова снабжали колбонагревателем. Суспензию нагревали до 60°C и условия поддерживали в течение 30 минут. Теплую суспензию фильтровали под вакуумом через воронку Бюхнера со стеклянной фриттой со слоем целита 20 мм. Затем осадок на фильтре промывали с вытеснением тетрагидрофураном при 60°C (2 X 250 мл) и затем вытягивали в течение 30 минут. Прозрачный фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением (23,5 г, 0,149 моль, выход 99%) прозрачного светло-желтого вязкого масла в качестве желаемого продукта, 3-(5,5-диметилпирролидин-3-ил)пропан-1-ола. 1H ЯМР (400 МГц, диметилсульфоксид-d<sub>6</sub>) δ 3,37 (dt, J=8,3, 6,4 Гц, 3H), 2,95 (dd, J=10,6, 7,6 Гц, 1H), 2,40 (dd, J=10,7, 7,7 Гц, 1H), 2,04 (dt, J=16,1, 8,1 Гц, 1H), 1,69 (dd, J=12,2, 8,2 Гц, 1H), 1,50-1,24 (m, 5H), 1,11-0,94 (m, 7H).

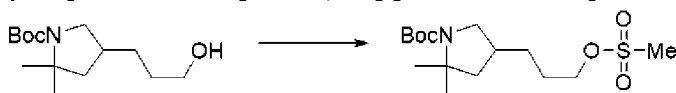
**Стадия 6: трет-Бутил 4-(3-гидроксипропил)-2,2-диметил-пирролидин-1-карбоксилат**



[00101] Трехгорлую круглодонную колбу объемом 1 л снабжали механической мешалкой, охлаждающей баней, капельной воронкой, датчиком температуры J-Кет и впускным/выпускным отверстием для азота. В сосуд в атмосфере азота загружали 3-(5,5-диметилпирролидин-3-ил)пропан-1-ол (15 г, 95,39 ммоль) и дихлорметан (225 мл, 15 мл/г), что давало прозрачный светло-желтый раствор. Начинали перемешивание и регистрировали температуру в емкости на уровне 19°C. В охлаждающую баню загружали смесь колотый лед/вода и температуру в емкости понижали до 0°C. В капельную воронку загружали триэтиламин (12,55 г, 124,0 ммоль), который затем добавляли в чистом виде по каплям в течение 5 минут. Экзотермического нагрева не наблюдалось. Затем в капельную

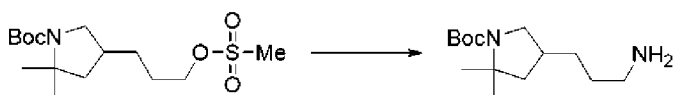
воронку загружали ди-*трет*-бутилдикарбонат (22,89 г, 104,9 ммоль), растворенный в дихлорметане (225 мл). Затем прозрачный бледно-желтый раствор добавляли по каплям в течение 30 минут, что приводило к слабому выделению газа. Экзотермического нагрева не наблюдалось. Охлаждающую баню удаляли и полученному прозрачному светло-желтому раствору давали нагреться до комнатной температуры и продолжали перемешивание при комнатной температуре в течение 3 часов. Реакционную смесь переносили в делительную воронку и разделяли с водой (75 мл). Органический слой удаляли и промывали насыщенным раствором хлорида натрия (75 мл), сушили над сульфатом натрия (150 г) и затем фильтровали через воронку Бюхнера со стеклянной фриттой. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением (30 г) прозрачного светло-желтого масла в качестве желаемого неочищенного продукта. Материал очищали методом флэш-хроматографии на колонке с силикагелем (жидкая загрузка с дихлорметаном), элюируя градиентом от 100% дихлорметана до 10% метилового спирта в дихлорметане в течение 60 минут, собирая фракции по 50 мл. Фракции желаемого продукта объединяли и концентрировали при пониженном давлении с получением *трет*-бутил-4-(3-гидроксипропил)-2,2-диметилпирролидин-1-карбоксилата (22 г, 0,0855 моль, выход 90%) в виде прозрачного бледно-желтого вязкого масла.  $^1\text{H ЯМР}$  (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  4,38 (td,  $J=5,2, 1,4$  Гц, 1H), 3,54 (dt,  $J=10,3, 6,7$  Гц, 1H), 3,38 (td,  $J=6,6, 3,5$  Гц, 2H), 2,76 (q,  $J=10,3$  Гц, 1H), 2,07 (td,  $J=11,6, 5,7$  Гц, 1H), 1,87 (ddd,  $J=16,7, 12,1, 6,0$  Гц, 1H), 1,37 (dd,  $J=14,2, 10,4$  Гц, 17H), 1,24 (s, 3H).

**Стадия 7: *трет*-Бутил 2,2-диметил-4-(3-метилсульфонилоксипропил)пирролидин-1-карбоксилат**



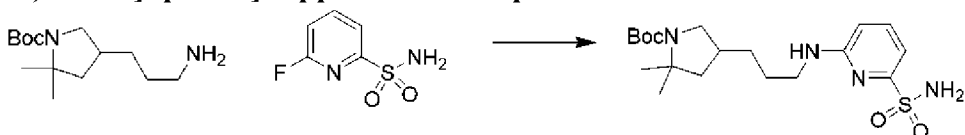
[00102] *трет*-Бутил 4-(3-гидроксипропил)-2,2-диметил-пирролидин-1-карбоксилат (50,5 г, 196,22 ммоль) и триэтиламин (39,711 г, 54,698 мл, 392,44 ммоль) растворяли в дихлорметане (500 мл) и полученный раствор охлаждали на бане с ледяной водой в течение 30 минут. По каплям в течение 30 минут добавляли мезилхлорид (24,725 г, 16,706 мл, 215,84 ммоль), затем ледяную баню удаляли и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение одного часа. Затем реакцию гасили насыщенным раствором бикарбоната натрия (200 мл). Фазы разделяли, и органическую фазу экстрагировали насыщенным бикарбонатом натрия (200 мл) и водой (2 X 100 мл). Водные фазы отбрасывали, а органическую фазу сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением *трет*-бутил 2,2-диметил-4-(3-метилсульфонилоксипропил)пирролидин-1-карбоксилата (64,2 г, 93%) в виде бледно-желтого масла. Значение  $m/z$  ESI-MS расчетное 335,1766, установленное 336,4 (M+1)<sup>+</sup>; время удерживания: 5,54 мин (способ Q на основе LC).

**Стадия 8: *трет*-Бутил 4-(3-аминопропил)-2,2-диметил-пирролидин-1-карбоксилат**



[00103] *tert*-Бутил 2,2-диметил-4-(3-метилсульфонилоксипропил)пирролидин-1-карбоксилат (64,2 г, 191,38 ммоль) растворяли в диоксане (650 мл), а затем добавляли гидроксид аммония (650 мл) и полученную смесь нагревали до 45°C в течение 18 ч. Через 18 ч реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры. Раствор разбавляли 1 М гидроксидом натрия (200 мл), а затем экстрагировали диэтиловым эфиром (3 X 650 мл). Водную фазу отбрасывали, а объединенные органические фазы экстрагировали водой (2 X 200 мл). Водные фазы отбрасывали, а органическую фазу сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением *tert*-бутил 4-(3-аминопропил)-2,2-диметилпирролидин-1-карбоксилата (48,9 г, 95%) в виде бледно-желтого масла. Значение *m/z* ESI-MS расчетное 256,2151, установленное 257,3 (M+1)<sup>+</sup>; время удерживания: 3,70 мин (способ Q на основе LC).

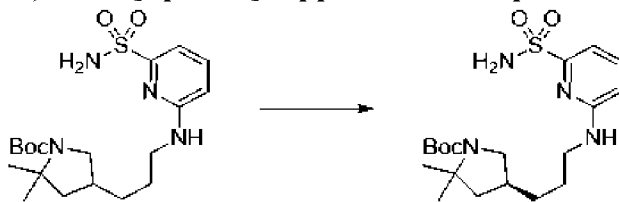
**Стадия 9: *tert*-Бутил 2,2-диметил-4-[3-[(6-сульфамоил-2-пиридил)амино]пропил]пирролидин-1-карбоксилат**



[00104] К *tert*-бутил 4-(3-аминопропил)-2,2-диметилпирролидин-1-карбоксилату (8,91 г, 34,8 ммоль) и 6-фторпиридин-2-сульфонамиду (6,13 г, 34,8 ммоль) в диметилсульфоксиде (75 мл) добавляли карбонат калия (4,91 г, 35,5 ммоль), и смесь перемешивали при 100°C в течение 12 часов, а затем давали остыть до температуры окружающей среды и перемешивали еще в течение 4 часов (всего 16 часов). Реакционную смесь медленно выливали в хлористоводородную кислоту (35 мл 1 М, 35,00 ммоль) в воде (200 мл) (некоторое пенообразование) и разбавляли этилацетатом (250 мл). Органическую фазу отделяли и промывали с помощью 100 мл рассола. Органическую фазу сушили над сульфатом магния, фильтровали через целит и концентрировали в вакууме с получением темно-желтого масла. Неочищенный продукт очищали методом хроматографии на силикагеле, элюируя 0-100% этилацетатом в гексане. Собирали как чистую фракцию (9,0 г), так и фракцию с примесями (3 г). Очищали фракции с примесями методом хроматографии на силикагеле, элюируя 0-100% этилацетатом в гексане, с получением в итоге *tert*-бутил 2,2-диметил-4-[3-[(6-сульфамоил-2-пиридил)амино]пропил]пирролидин-1-карбоксилата (10,0 г, 69%). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, диметилсульфоксид-d<sub>6</sub>) δ 7,52 (dd, J=8,5, 7,2 Гц, 1H), 7,07 (s, 2H), 6,95 (dd, J=7,2, 0,7 Гц, 2H), 6,61 (d, J=8,5 Гц, 1H), 3,55 (q, J=9,1 Гц, 1H), 3,32-3,24 (m, 2H), 2,79 (q, J=10,0 Гц, 1H), 2,13 (d, J=16,1 Гц, 1H), 1,96-1,82 (m, 1H), 1,51 (dt, J=18,0, 9,3 Гц, 2H), 1,37 (dd, J=12,9, 10,6 Гц, 15H), 1,24 (s, 3H). Значение *m/z* ESI-MS расчетное 412,21442, установленное 413,1 (M+1)<sup>+</sup>; время удерживания: 2,34 мин (способ D на основе LC).

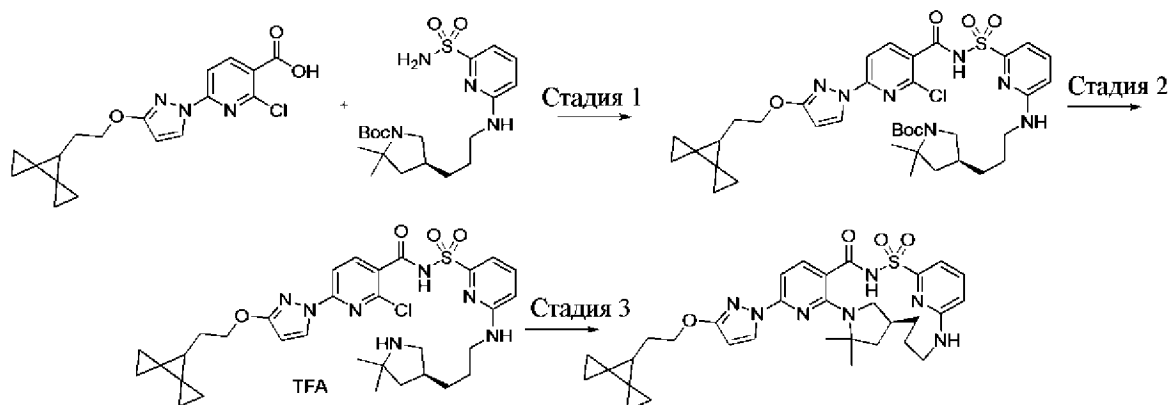
**Стадия 10: *tert*-Бутил (4S)-2,2-диметил-4-[3-[(6-сульфамоил-2-**

**пиридил)амино]пропил]пирролидин-1-карбоксилат**

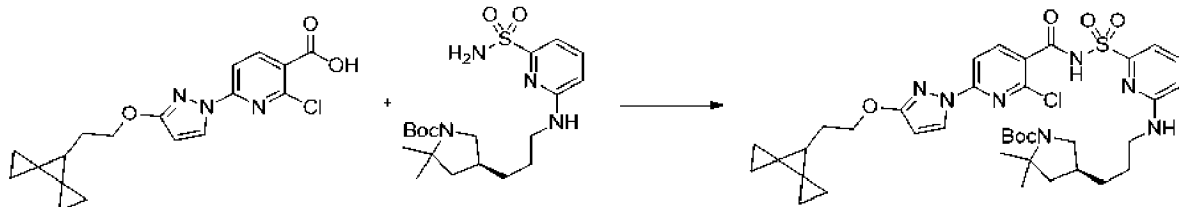


[00105] Подвергали рацемический *трет*-бутил 2,2-диметил-4-[3-[(6-сульфамоил-2-пиридил)амино]пропил]пирролидин-1-карбоксилат (7 г, 16,97 ммоль) хиральному разделению посредством SFC-хроматографии с использованием ChiralPak IG (колонка 250 X 21,2 мм, размер частиц 5 мкм) с подвижной фазой 40% метанол/60% диоксид углерода при скорости 70 мл/мин в течение 11,0 мин (объем впрыска=500 мкл раствора 32 мг/мл в метаноле) с получением в качестве первого пика для элюирования *трет*-бутил (4*S*)-2,2-диметил-4-[3-[(6-сульфамоил-2-пиридил)амино]пропил]пирролидин-1-карбоксилата (3,4481 г, 99%). Значение *m/z* ESI-MS расчетное 412,21442, установленное 413,2 (M+1)<sup>+</sup>; время удерживания: 0,63 мин (способ А на основе LC).

**Часть С: Синтез (14*S*)-8-[3-(2-{диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил}этокси)-1*H*-пиразол-1-ил]-12,12-диметил-2λ6-гиа-3,9,11,18,23-пентаазатетрацикло [17.3.1.111,14.05,10]тетракоза-1(22),5,7,9,19(23),20-гексаен-2,2,4-триона (соединение I)**



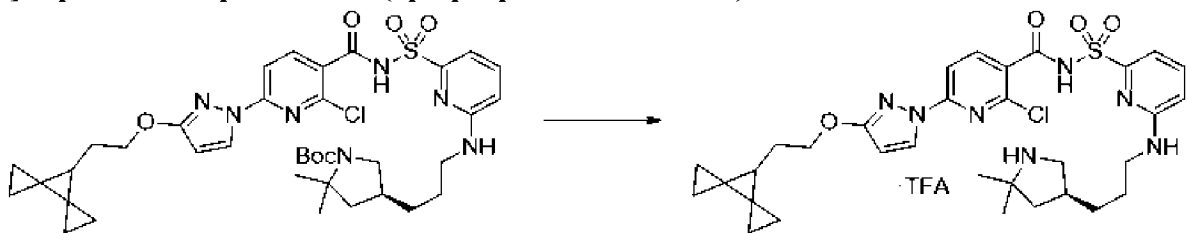
**Стадия 1: *трет*-Бутил (4*S*)-4-[3-[[6-[[2-хлор-6-[3-(2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этокси)пиразол-1-ил]пиридин-3-карбонил]сульфамоил]-2-пиридил)амино]пропил]-2,2-диметилпирролидин-1-карбоксилат**



[00106] К раствору 2-хлор-6-[3-(2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этокси)пиразол-1-ил]пиридин-3-карбоновой кислоты (5,2 г, 14,45 ммоль) в тетрагидрофуране (100 мл) добавляли карбонилдиимдазол (2,8 г, 16,51 ммоль), и смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 1 часа. К этой смеси добавляли *трет*-бутил (4*S*)-2,2-диметил-4-[3-[(6-сульфамоил-2-пиридил)амино]пропил]пирролидин-1-

карбоксилат (6,0 г, 14,54 ммоль) в тетрагидрофуране (15 мл), затем 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ен (6,5 мл, 43,47 ммоль), и смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 16 часов. Реакционную смесь разбавляли водой (150 мл) и смесь подкисляли водной хлористоводородной кислотой (15 мл 6 М, 90,00 ммоль). Смесь экстрагировали этилацетатом (300 мл) и органическую фазу отделяли. Органическую фазу промывали рассолом, сушили над сульфатом магния, фильтровали через целит и концентрировали *in vacuo* с получением белого осадка. Осадок суспендировали в ацетонитриле, твердое вещество собирали фильтрованием с использованием стеклянной фритты среднего размера и промывали ацетонитрилом. Фильтрат концентрировали *in vacuo* с получением желтого масла. Неочищенное масло разбавляли ацетонитрилом и некоторым количеством N-метил-2-пирролидона и хроматографировали на колонке C<sub>18</sub> с обращенной фазой 415 г, элюируя 50-100% ацетонитрилом в воде, с получением *трет*-бутил (4S)-4-[3-[[6-[[2-хлор-6-[3-(2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этокси)пиразол-1-ил]пиридин-3-карбонил]сульфамоил]-2-пиридил]амино]пропил]-2,2-диметилпирролидин-1-карбоксилата (4,5 г, 41%). Значение *m/z* ESI-MS расчетное 753,30756, установленное 754,4 (M+1)<sup>+</sup>; время удерживания: 3,79 мин (способ D на основе LC).

**Стадия 2: 2-Хлор-N-[[6-[3-[(3S)-5,5-диметилпирролидин-3-ил]пропиламино]-2-пиридил]сульфонил]-6-[3-(2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этокси)пиразол-1-ил]пиридин-3-карбоксамид (трифторацетатная соль)**



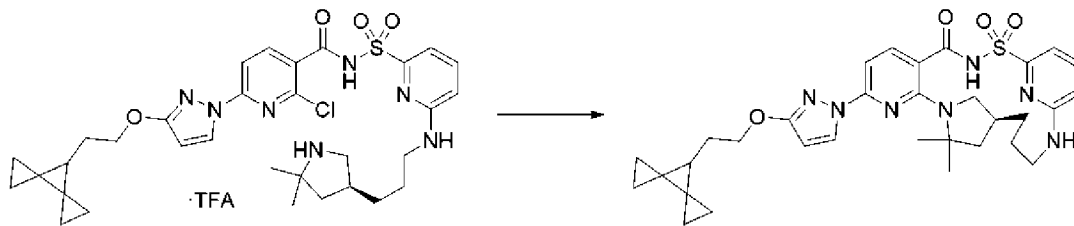
[00107] К раствору *трет*-бутил (4S)-4-[3-[[6-[[2-хлор-6-[3-(2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этокси)пиразол-1-ил]пиридин-3-карбонил]сульфамоил]-2-пиридил]амино]пропил]-2,2-диметилпирролидин-1-карбоксилата (5,9 г, 7,821 ммоль) в дихлорметане (30 мл) и толуоле (15 мл) добавляли трифторуксусную кислоту (6,0 мл, 77,88 ммоль), и смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 18 часов. Растворитель удаляли *in vacuo* при температуре бани, установленной на 45°C, с получением густого желтого масла. Масло разбавляли толуолом (125 мл) и растворитель удаляли *in vacuo* при температуре бани, установленной на 45°C. Масло разбавляли толуолом и растворитель удаляли *in vacuo* с получением густого вязкого масла желтого цвета,

2-хлор-N-[[6-[3-[(3S)-5,5-диметилпирролидин-3-ил]пропиламино]-2-пиридил]сульфонил]-6-[3-(2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этокси)пиразол-1-ил]пиридин-3-карбоксамид (трифторацетатная соль) (6,0 г, 100%), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. Значение *m/z* ESI-MS расчетное 653,2551, установленное 654,3 (M+1)<sup>+</sup>; время удерживания: 2,6 мин (способ B на основе LC).

**Стадия 3: (14S)-8-[3-(2-{Диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил}этокси)-1H-пиразол-1-ил]-**



**12,12-диметил-2λ6-тиа-3,9,11,18,23-пентаазатетрацикло[17.3.1.111,14.05,10]тетракоза-1(22),5,7,9,19(23),20-гексаен-2,2,4-трион (соединение I)**

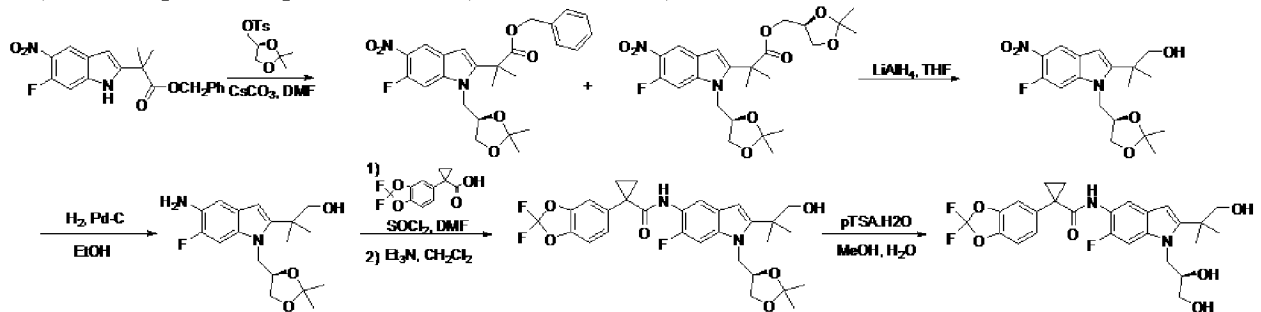


[00108] К раствору 2-хлор-N-[[6-[3-[(3S)-5,5-диметилпирролидин-3-ил]пропиламино]-2-пиридил]сульфонил]-6-[3-(2-диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил-этоксипиразол-1-ил)пиридин-3-карбоксиамида (трифторацетатная соль) (6,0 г, 7,810 ммоль) в NMP (140 мл) добавляли карбонат калия (5,3 г, 38,35 ммоль). Смесь продували азотом в течение 5 минут. Затем смесь нагревали при 150°C в течение 22 часов. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли к воде (300 мл) с получением белесого твердого осадка. Смесь осторожно подкисляли водной хлористоводородной кислотой (12 мл 6 М, 72,00 ммоль) с получением пенистой суспензии. Твердое вещество собирали фильтрацией с использованием стеклянной фритты среднего размера. Влажный осадок на фильтре растворяли в этилацетате (500 мл) и промывали с помощью 200 мл рассола. Водная фаза была слегка мутной, поэтому ее подкисляли небольшим количеством 6 н хлористоводородной кислоты и возвращали к органической фазе. Водную фазу отделяли, а органическую фазу сушили над сульфатом магния, фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением светло-желтого масла. Этот неочищенный продукт разбавляли ацетонитрилом и подвергали хроматографии на колонке C<sub>18</sub> с обращенной фазой 415 г, элюируя 50-100% ацетонитрилом в воде. Продукт выделяли в виде пены кремового цвета. Пену сушили *in vacuo* при 45°C в течение 48 часов с получением (14S)-8-[3-(2-{диспиро[2.0.2.1]гептан-7-ил}этоксипиразол-1-ил)-12,12-диметил-2λ6-тиа-3,9,11,18,23-пентаазатетрацикло[17.3.1.111,14.05,10]тетракоза-1(22),5,7,9,19(23),20-гексаен-2,2,4-триона (соединение I) (3,32 г, 68%). <sup>1</sup>H ЯМР(400 МГц, диметилсульфоксид-d<sub>6</sub>) δ 12,48 (s, 1H), 8,20 (d, J=2,8 Гц, 1H), 7,81 (d, J=8,2 Гц, 1H), 7,57 (dd, J=8,5, 7,2 Гц, 1H), 7,05 (d, J=7,1 Гц, 1H), 6,97 (d, J=8,5 Гц, 1H), 6,91 (d, J=8,2 Гц, 1H), 6,71 (d, J=8,5 Гц, 1H), 6,08 (d, J=2,7 Гц, 1H), 4,21 (td, J=6,7, 1,3 Гц, 2H), 3,92 (d, J=12,0 Гц, 1H), 3,16 (s, 1H), 2,95 (d, J=13,3 Гц, 1H), 2,78-2,66 (m, 1H), 2,07 (s, 1H), 1,92-1,72 (m, 4H), 1,60 (s, 6H), 1,51 (s, 3H), 1,47 (t, J=6,5 Гц, 1H), 1,31 (q, J=12,2 Гц, 1H), 0,89-0,77 (m, 4H), 0,69-0,61 (m, 2H), 0,53-0,45 (m, 2H). Значение m/z ESI-MS расчетное 617,27844, установленное 618,4 (M+1)<sup>+</sup>; время удерживания: 10,29 мин (способ F на основе LC).

[00109] Соли Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup> и K<sup>+</sup> соединения I получали путем смешивания соединения I с Ca(OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, Na(OCH<sub>3</sub>) и KOH соответственно: смешивание соединения I (1 г) и Ca(OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (83 мг) в метаноле (65 мл) при комнатной температуре в течение 30 минут, а затем при 65°C в течение 30 минут; смешивание соединения I (0,6 г (1 ммоль)) в MeOH (40 мл) с 25 вес. % Na(OCH<sub>3</sub>) в MeOH (250 мл (1-молярный эквивалент)) при 60°C в течение 20 минут; и смешивание соединения I (0,6 г) в ацетоне (11 мл) с 1 н KOH (1-

молярный эквивалент) при 50°C в течение 1 часа. После фильтрации полученных горячих растворов фильтраты упаривали досуха с получением желаемых аморфных солей, соответственно (данные PXRD не показаны).

**Пример 2: Синтез (R)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-N-(1-(2,3-дигидроксипропил)-6-фтор-2-(1-гидрокси-2-метилпропан-2-ил)-1H-индол-5-ил)циклопропанкарбоксамида (соединение II)**



**Стадия 1: (R)-Бензил 2-(1-((2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)-6-фтор-5-нитро-1H-индол-2-ил)-2-метилпропаноат и ((S)-2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил 2-(1-(((R)-2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)-6-фтор-5-нитро-1H-индол-2-ил)-2-метилпропаноат**

[00110] Карбонат цезия (8,23 г, 25,3 ммоль) добавляли к смеси бензил-2-(6-фтор-5-нитро-1H-индол-2-ил)-2-метилпропаноата (3,0 г, 8,4 ммоль) и (S)-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил-4-метилбензолсульфоната (7,23 г, 25,3 ммоль) в DMF (17 мл). Реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение 46 часов в атмосфере азота. Затем смесь разделяли между этилацетатом и водой. Водный слой экстрагировали этилацетатом. Объединенные этилацетатные слои промывали рассолом, сушили над MgSO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт, вязкое коричневое масло, содержащее оба указанных выше продукта, без дополнительной очистки направляли непосредственно на следующую стадию. (R)-Бензил 2-(1-((2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)-6-фтор-5-нитро-1H-индол-2-ил)-2-метилпропаноат, значение m/z ESI-MS расчетное 470,2, установленное 471,5 (M+1)<sup>+</sup>. Время удерживания 2,20 минуты. ((S)-2,2-Диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил 2-(1-(((R)-2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)-6-фтор-5-нитро-1H-индол-2-ил)-2-метилпропаноат, значение m/z ESI-MS расчетное 494,5, установленное 495,7 (M+1)<sup>+</sup>. Время удерживания 2,01 минуты.

**Стадия 2: (R)-2-(1-((2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)-6-фтор-5-нитро-1H-индол-2-ил)-2-метилпропан-1-ол**

[00111] Неочищенную реакционную смесь, полученную на стадии (A), растворяли в THF (42 мл) и охлаждали на бане с ледяной водой. По каплям добавляли LiAlH<sub>4</sub> (16,8 мл 1 М раствора, 16,8 ммоль). После завершения добавления смесь перемешивали еще 5 минут. Реакцию гасили добавлением воды (1 мл), 15% раствора NaOH (1 мл), а затем воды (3 мл). Смесь фильтровали через целит, и твердые вещества промывали THF и этилацетатом. Фильтрат концентрировали и очищали методом колоночной хроматографии (30-60% этилацетат-гексан) с получением (R)-2-(1-((2,2-диметил-1,3-

диоксолан-4-ил)метил)-6-фтор-5-нитро-1H-индол-2-ил)-2-метилпропан-1-ол в виде коричневого масла (2,68 г, 87% за 2 стадии). Значение  $m/z$  ESI-MS расчетное 366,4, установленное 367,3 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Время удерживания 1,68 минуты. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  8,34 (d,  $J=7,6$  Гц, 1H), 7,65 (d,  $J=13,4$  Гц, 1H), 6,57 (s, 1H), 4,94 (t,  $J=5,4$  Гц, 1H), 4,64-4,60 (m, 1H), 4,52-4,42 (m, 2H), 4,16-4,14 (m, 1H), 3,76-3,74 (m, 1H), 3,63-3,53 (m, 2H), 1,42 (s, 3H), 1,38-1,36 (m, 6H) и 1,19 (s, 3H) ppm

**Стадия 3: (R)-2-(5-амино-1-((2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)-6-фтор-1H-индол-2-ил)-2-метилпропан-1-ол**

[00112] (R)-2-(1-((2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)-6-фтор-5-нитро-1H-индол-2-ил)-2-метилпропан-1-ол (2,5 г, 6,82 ммоль) растворяли в этаноле (70 мл), и реакционную смесь продували N<sub>2</sub>. Затем добавляли Pd-C (250 мг, 5 вес. %). Реакционную смесь снова продували азотом и затем перемешивали в атмосфере H<sub>2</sub> (ат). Через 2,5 часа с помощью LCMS наблюдали только частичное превращение в продукт. Реакционную смесь фильтровали через целит и концентрировали. Остаток повторно подвергали указанным выше условиям. Через 2 часа методом LCMS показано полное превращение в продукт. Реакционную смесь фильтровали через целит. Фильтрат концентрировали с получением продукта в виде черного твердого вещества (1,82 г, 79%). Значение  $m/z$  ESI-MS расчетное 336,2, установленное 337,5 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Время удерживания 0,86 минуты. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7,17 (d,  $J=12,6$  Гц, 1H), 6,76 (d,  $J=9,0$  Гц, 1H), 6,03 (s, 1H), 4,79-4,76 (m, 1H), 4,46 (s, 2H), 4,37-4,31 (m, 3H), 4,06 (dd,  $J=6,1, 8,3$  Гц, 1H), 3,70-3,67 (m, 1H), 3,55-3,52 (m, 2H), 1,41 (s, 3H), 1,32 (s, 6H) и 1,21 (s, 3H) ppm.

**Стадия 4: (R)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-N-(1-((2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)-6-фтор-2-(1-гидрокси-2-метилпропан-2-ил)-1H-индол-5-ил)циклопропанкарбоксамид**

[00113] DMF (3 капли) добавляли к перемешиваемой смеси 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)циклопропанкарбоновой кислоты (1,87 г, 7,7 ммоль) и тионилхлорида (1,30 мл, 17,9 ммоль). Через 1 час образовался прозрачный раствор. Раствор концентрировали в вакууме, затем добавляли толуол (3 мл) и смесь снова концентрировали. Стадию с толуолом повторяли еще раз, и остаток помещали в высокий вакуум на 10 минут. Затем хлорангидрид растворяли в дихлорметане (10 мл) и добавляли к смеси (R)-2-(5-амино-1-((2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)-6-фтор-1H-индол-2-ил)-2-метилпропан-1-ола (1,8 г, 5,4 ммоль) и триэтиламина (2,24 мл, 16,1 ммоль) в дихлорметане (45 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Реакционную смесь промывали 1 н раствором HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и рассолом, сушили над MgSO<sub>4</sub> и концентрировали с получением продукта в виде черного пенистого твердого вещества (3 г, 100%). Значение  $m/z$  ESI-MS расчетное 560,6, установленное 561,7 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Время удерживания 2,05 минуты. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  8,31 (s, 1H), 7,53 (s, 1H), 7,42-7,40 (m, 2H), 7,34-7,30 (m, 3H), 6,24 (s, 1H), 4,51-4,48 (m, 1H), 4,39-4,34 (m, 2H), 4,08 (dd,  $J=6,0, 8,3$  Гц, 1H), 3,69 (t,  $J=7,6$  Гц, 1H), 3,58-3,51 (m, 2H), 1,48-1,45 (m, 2H), 1,39 (s, 3H), 1,34-1,33 (m, 6H), 1,18 (s, 3H) и 1,14-

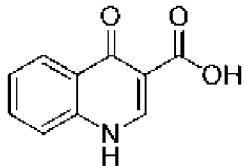
1,12 (m, 2H) ppm

**Стадия 5: (R)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-N-(1-(2,3-дигидроксипропил)-6-фтор-2-(1-гидрокси-2-метилпропан-2-ил)-1H-индол-5-ил)циклопропанкарбоксамид**

[00114] (R)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-N-(1-((2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)-6-фтор-2-(1-гидрокси-2-метилпропан-2-ил)-1H-индол-5-ил)циклопропанкарбоксамид (3,0 г, 5,4 ммоль) растворяли в метаноле (52 мл). Добавляли воду (5,2 мл), а затем p-TsOH.H<sub>2</sub>O (204 мг, 1,1 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 80°C в течение 45 минут. Раствор концентрировали и затем разделяли между этилацетатом и насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>. Слой этилацетата сушили над MgSO<sub>4</sub> и концентрировали. Остаток очищали методом колоночной хроматографии (50-100% этилацетат - гексан) с получением продукта в виде пенистого твердого вещества кремового цвета. (1,3 г, 47%, э.и. >98% по SFC). Значение m/z ESI-MS расчетное 520,5, установленное 521,7 (M+1)<sup>+</sup>. Время удерживания 1,69 минуты. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,31 (s, 1H), 7,53 (s, 1H), 7,42-7,38 (m, 2H), 7,33-7,30 (m, 2H), 6,22 (s, 1H), 5,01 (d, J=5,2 Гц, 1H), 4,90 (t, J=5,5 Гц, 1H), 4,75 (t, J=5,8 Гц, 1H), 4,40 (dd, J=2,6, 15,1 Гц, 1H), 4,10 (dd, J=8,7, 15,1 Гц, 1H), 3,90 (s, 1H), 3,65-3,54 (m, 2H), 3,48-3,33 (m, 2H), 1,48-1,45 (m, 2H), 1,35 (s, 3H), 1,32 (s, 3H) и 1,14-1,11 (m, 2H) ppm.

**Пример 3: Синтез N-(2,4-ди-*трет*-бутил-5-гидроксифенил)-4-оксо-1,4-дигидрохиолин-3-карбоксамид (соединение III)**

**Часть А: Синтез 4-оксо-1,4-дигидрохиолин-3-карбоновой кислоты**



**Стадия 1: Диэтиловый эфир 2-фениламинометиленмалоновой кислоты**

[00115] Смесь анилина (25,6 г, 0,275 моль) и диэтил 2-(этоксиметилен)малоната (62,4 г, 0,288 моль) нагревали при 140-150 °C в течение 2 часов. Смесь охлаждали до комнатной температуры и сушили при пониженном давлении с получением диэтилового эфира 2-фениламинометиленмалоновой кислоты в виде твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. <sup>1</sup>H ЯМР (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 11,00 (d, 1H), 8,54 (d, J=13,6 Гц, 1H), 7,36-7,39 (m, 2H), 7,13-7,17 (m, 3H), 4,17-4,33 (m, 4H), 1,18-1,40 (m, 6H).

**Стадия 2: Этиловый эфир 4-гидроксихиолин-3-карбоновой кислоты**

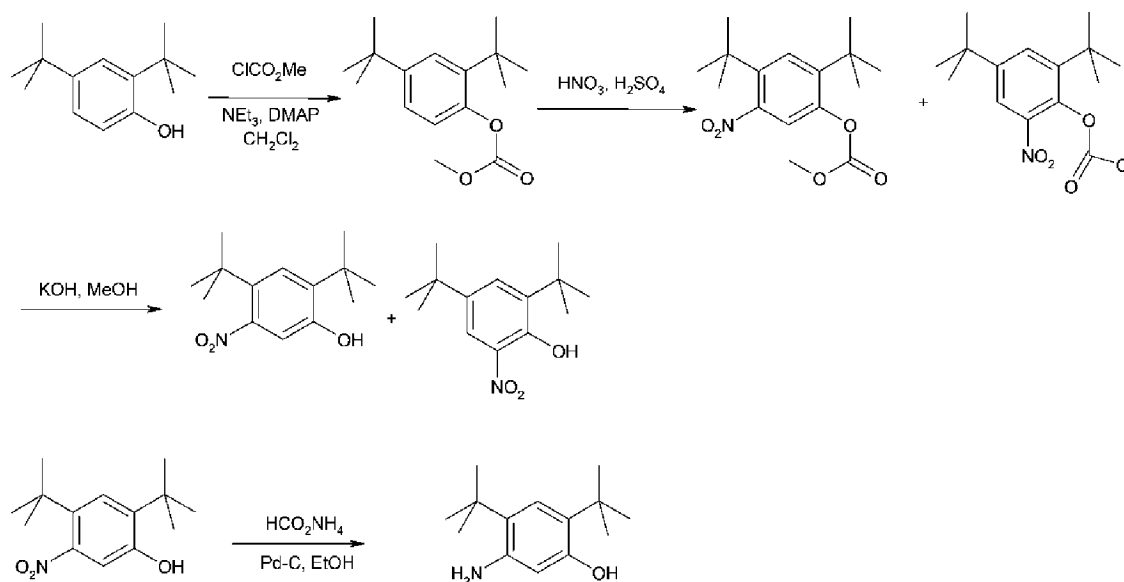
[00116] В трехгорлую колбу объемом 1 л, снабженную механической мешалкой, загружали диэтиловый эфир 2-фениламинометиленмалоновой кислоты (26,3 г, 0,100 моль), полифосфорную кислоту (270 г) и фосфорилхлорид (750 г). Смесь нагревали до 70 °C и перемешивали в течение 4 часов. Смесь охлаждали до комнатной температуры и фильтровали. Остаток обрабатывали водным раствором Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, фильтровали, промывали водой и сушили. Этиловый эфир 4-гидроксихиолин-3-карбоновой кислоты получали в

виде бледно-коричневого твердого вещества (15,2 г, 70%). Неочищенный продукт использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

### Стадия 3: 4-Оксо-1,4-дигидрохиолин-3-карбоновая кислота

[00117] Этиловый эфир 4-гидроксихиолин-3-карбоновой кислоты (15 г, 69 ммоль) суспендировали в растворе гидроксида натрия (2 н, 150 мл) и перемешивали в течение 2 ч при кипячении с обратным холодильником. После охлаждения смесь фильтровали и фильтрат подкисляли до pH=4 с помощью 2 н HCl. Полученный осадок собирали фильтрованием, промывали водой и сушили в вакууме с получением 4-оксо-1,4-дигидрохиолин-3-карбоновой кислоты в виде бледно-белого твердого вещества (10,5 г, 92%).  $^1\text{H}$  ЯМР (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  15,34 (s, 1H), 13,42 (s, 1H), 8,89 (s, 1H), 8,28 (d, J=8,0 Гц, 1H), 7,88 (m, 1H), 7,81 (d, J=8,4 Гц, 1H), 7,60 (m, 1H).

### Часть В: Синтез N-(2,4-ди-*трет*-бутил-5-гидроксифенил)-4-оксо-1,4-дигидрохиолин-3-карбоксамид



### Стадия 1: Метилловый эфир 2,4-ди-*трет*-бутилфенилового эфира карбоновой кислоты

[00118] Метилхлорформиат (58 мл, 750 ммоль) по каплям добавляли к раствору 2,4-ди-*трет*-бутилфенола (103,2 г, 500 ммоль), Et<sub>3</sub>N (139 мл, 1000 ммоль) и DMAP (3,05 г, 25 ммоль) в дихлорметане (400 мл), охлажденном на бане с ледяной водой до 0°C. Смеси давали нагреться до комнатной температуры при перемешивании в течение ночи, затем фильтровали через силикагель (приблизительно 1 л), используя 10% этилацетат - гексаны (~ 4 л) в качестве элюента. Объединенные фильтраты концентрировали с получением метилового эфира 2,4-ди-*трет*-бутилфенилового эфира карбоновой кислоты в виде желтого масла (132 г, колич.).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7,35 (d, J=2,4 Гц, 1H), 7,29 (dd, J=8,5, 2,4 Гц, 1H), 7,06 (d, J=8,4 Гц, 1H), 3,85 (s, 3H), 1,30 (s, 9H), 1,29 (s, 9H).

### Стадия 2: Метилловый эфир 2,4-ди-*трет*-бутил-5-нитрофенилового эфира карбоновой кислоты и метилловый эфир 2,4-ди-*трет*-бутил-6-нитрофенилового эфира карбоновой кислоты

[00119] К перемешиваемой смеси метилового эфира 2,4-ди-*трет*-бутилфенилового эфира карбоновой кислоты (4,76 г, 180 ммоль) в конц. серной кислоте (2 мл), охлажденной на бане с ледяной водой, добавляли охлажденную смесь серной кислоты (2 мл) и азотной кислоты (2 мл). Добавление производили медленно, чтобы температура реакции не превышала 50 °С. Реакционной смеси давали возможность перемешиваться в течение 2 часов при нагревании до комнатной температуры. Затем реакционную смесь добавляли к ледяной воде и экстрагировали диэтиловым эфиром. Эфирный слой сушили (MgSO<sub>4</sub>), концентрировали и очищали методом колоночной хроматографии (0-10% этилацетат - гексаны) с получением смеси метилового эфира 2,4-ди-*трет*-бутил-5-нитрофенилового эфира карбоновой кислоты и метилового эфира 2,4-ди-*трет*-бутил-6-нитрофенилового эфира карбоновой кислоты в виде бледно-желтого твердого вещества (4,28 г), которое непосредственно использовали на следующей стадии.

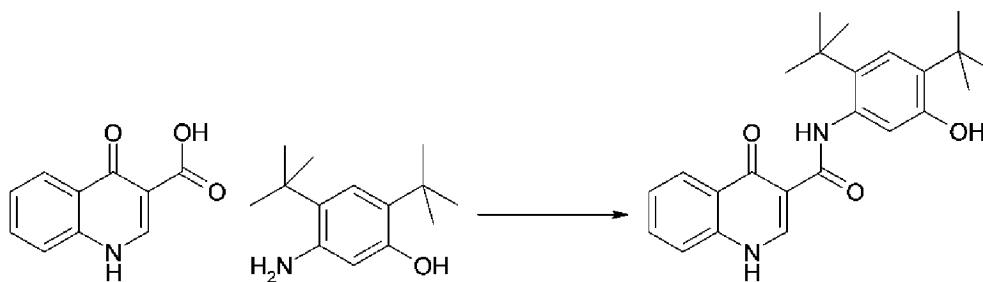
**Стадия 3: 2,4-Ди-*трет*-бутил-5-нитрофенол и 2,4-ди-*трет*-бутил-6-нитрофенол**

[00120] Смесь метилового эфира 2,4-ди-*трет*-бутил-5-нитрофенилового эфира карбоновой кислоты и метилового эфира 2,4-ди-*трет*-бутил-6-нитрофенилового эфира карбоновой кислоты (4,2 г, 14,0 ммоль) растворяли в MeOH (65 мл) перед добавлением KOH (2,0 г, 36 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Затем реакционную смесь подкисляли (pH 2-3), добавляя конц. HCl, и разделяли между водой и диэтиловым эфиром. Эфирный слой сушили (MgSO<sub>4</sub>), концентрировали и очищали методом колоночной хроматографии (0-5% этилацетат - гексаны) с получением 2,4-ди-*трет*-бутил-5-нитрофенола (1,31 г, 29% в течение 2 стадий) и 2,4-ди-*трет*-бутил-6-нитрофенола. 2,4-Ди-*трет*-бутил-5-нитрофенол: <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10,14 (s, 1H, OH), 7,34 (s, 1H), 6,83 (s, 1H), 1,36 (s, 9H), 1,30 (s, 9H). 2,4-Ди-*трет*-бутил-6-нитрофенол: <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 11,48 (s, 1H), 7,98 (d, J=2,5 Гц, 1H), 7,66 (d, J=2,4 Гц, 1H), 1,47 (s, 9H), 1,34 (s, 9H).

**Стадия 4: 5-Амино-2,4-ди-*трет*-бутилфенол**

[00121] К кипящему с обратным холодильником раствору 2,4-ди-*трет*-бутил-5-нитрофенола (1,86 г, 7,40 ммоль) и формиата аммония (1,86 г) в этаноле (75 мл) добавляли Pd 5% вес. на активированном угле (900 мг). Реакционную смесь перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 2 часов, охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через целит. Целит промывали метанолом, и объединенные фильтраты концентрировали с получением 5-амино-2,4-ди-*трет*-бутилфенола в виде серого твердого вещества (1,66 г, колич.). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,64 (s, 1H, OH), 6,84 (s, 1H), 6,08 (s, 1H), 4,39 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 1,27 (m, 18H); время удерживания HPLC 2,72 мин, 10-99% CH<sub>3</sub>CN, хроматография 5 мин; значение m/z ESI-MS 222,4 [M+H]<sup>+</sup>.

**Стадия 5: N-(5-гидрокси-2,4-ди-*трет*-бутил-фенил)-4-оксо-1H-хинолин-3-карбоксамид**



[00122] К суспензии 4-оксо-1,4-дигидрохиолин-3-карбоновой кислоты (35,5 г, 188 ммоль) и НВТУ (85,7 г, 226 ммоль) в DMF (280 мл) добавляли Et<sub>3</sub>N (63,0 мл, 451 ммоль) при температуре окружающей среды. Смесь становилась гомогенной и ей давали перемешиваться в течение 10 минут, после чего небольшими порциями добавляли 5-амино-2,4-ди-*трет*-бутилфенол (50,0 г, 226 ммоль). Смесь оставляли перемешиваться в течение ночи при температуре окружающей среды. В ходе реакции смесь становилась однородной. После израсходования всей кислоты (анализ LC-MS, МН<sup>+</sup> 190, 1,71 мин) растворитель удаляли *in vacuo*. К твердому материалу оранжевого цвета добавляли EtOH с получением суспензии. Смесь перемешивали на роторном испарителе (температура бани 65°C) в течение 15 минут, не помещая систему в вакуум. Смесь фильтровали, и захваченное твердое вещество промывали гексанами с получением белого твердого вещества, которое представляло собой продукт кристаллизации в EtOH. Et<sub>2</sub>O добавляли к твердому веществу, полученному выше, до образования суспензии. Смесь перемешивали на роторном испарителе (температура бани 25°C) в течение 15 минут, не помещая систему в вакуум. Смесь фильтровали и улавливали твердое вещество. Эту процедуру проводили в общей сложности пять раз. Твердое вещество, полученное после пятого осаждения, помещали в вакуум на ночь с получением N-(5-гидрокси-2,4-ди-*трет*-бутилфенил)-4-оксо-1H-хиолин-3-карбоксамид в виде белого порошкообразного твердого вещества (38 г, 52%). Время удерживания HPLC 3,45 мин, 10-99% CH<sub>3</sub>CN, хроматография 5 мин; <sup>1</sup>H ЯМР(400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12,88 (s, 1H), 11,83 (s, 1H), 9,20 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 8,33 (dd, J=8,2, 1,0 Гц, 1H), 7,83-7,79 (m, 1H), 7,76 (d, J=7,7 Гц, 1H), 7,54-7,50 (m, 1H), 7,17 (s, 1H), 7,10 (s, 1H), 1,38 (s, 9H), 1,37 (s, 9H); значение m/z ESI-MS расчетное 392,21; установленное 393,3 [M+H]<sup>+</sup>.

**Пример 4: Синтез N-(2-(трет-бутил)-4-(трет-бутил-d<sub>9</sub>)-5- гидроксифенил)-4-оксо-1,4-дигидрохиолин-3-карбоксамид (соединение III-d)**

**Стадия 1. 2-(трет-Бутил-d<sub>9</sub>)-4-(трет-бутил)-6-d-фенол**

[00123] К раствору 4-трет-бутилфенола (3,43 г, 22,7 ммоль) и трет-бутилового спирта-d<sub>10</sub> (3,00 мл, 31,8 ммоль, 98 ат.% D, Cambridge Isotope Laboratories, Inc.) в дихлорметане (40,0 мл) добавляли D<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1,50 мл, 99,5 ат.% D, Sigma-Aldrich). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 часов, затем разбавляли водой и экстрагировали дихлорметаном (3×100 мл). Органические слои объединяли, промывали насыщенным NaHCO<sub>3</sub>, сушили (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фильтровали и концентрировали в вакууме. Полученное масло очищали методом колоночной хроматографии (SiO<sub>2</sub>, 0-15% этилацетат/гептан) с получением 2-(трет-бутил-d<sub>9</sub>)-4-(трет-

бутил)-6-d-фенола (4,04 г, выход 83%) в виде прозрачного масла.  $^1\text{H}$  ЯМР ( $d_6$ -DMSO, 400 МГц)  $\delta$  9,04 (s, 1H), 7,12 (d,  $J=2,4$  Гц, 1H), 6,98 (dd,  $J=3,8, 2,5$  Гц, 1H), 6,67 (d,  $J=8,3$  Гц, 0,3H), 1,22 (s, 10H).

#### **Стадия 2: 2-(трет-Бутил- $d_9$ )-4-(трет-бутил)-6-d-фенилметилкарбонат**

[00124] К раствору 2-(трет-бутил- $d_9$ )-4-(трет-бутил)-6-d-фенола (4,04 г, 18,8 ммоль), триэтиламина (5,24 мл, 37,6 ммоль) и N, N-диметиламинопиридина (115 мг, 0,940 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (40,0 мл) при 0°C добавляли метилхлорформиат (2,17 мл, 28,2 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 часов и добавляли дополнительно триметиламин (1,30 мл, 9,33 ммоль) и метилхлорформиат (0,550 мл, 7,15 ммоль). После перемешивания в течение еще 1 часа реакционную смесь разбавляли 10% этилацетатом/гептаном и фильтровали через пробку из силикагеля. Затем пробку из силикагеля промывали дополнительным количеством 10% этилацетата/гептана. Фильтрат объединяли и концентрировали в вакууме с получением 2-(трет-бутил- $d_9$ )-4-(трет-бутил)-6-d-фенилметилкарбоната (4,69 г, выход 91%) в виде светло-желтого масла, которое переносили дальше без очистки.  $^1\text{H}$  ЯМР ( $d_6$ -DMSO, 400 МГц)  $\delta$  7,33 (d,  $J=2,4$  Гц, 1H), 7,30-7,20 (m, 1H), 7,06 (d,  $J=8,5$  Гц, 0,3H), 3,84 (d,  $J=0,7$  Гц, 3H), 1,28 (s, 9H).

#### **Стадия 3: 2-(трет-Бутил- $d_9$ )-4-(трет-бутил)-6-d-5-нитрофенол**

[00125] К раствору 2-(трет-бутил- $d_9$ )-4-(трет-бутил)-6-d-фенилметилкарбоната (4,69 г, 17,2 ммоль) в серной кислоте (2,00 мл) при 0°C добавляли смесь 1:1 серной и азотной кислот (4,00 мл) по каплям. Затем реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение двух часов, затем медленно добавляли к ледяной воде при интенсивном перемешивании. Полученную суспензию экстрагировали этилацетатом ( $3 \times 100$  мл), и объединенные органические слои сушили ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), фильтровали и концентрировали с получением масла янтарного цвета, содержащего смесь региоизомеров. Это неочищенное масло затем растворяли в MeOH (100 мл) и добавляли KOH (3,50 г). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов, затем подкисляли до pH=2 концентрированной HCl. Полученный раствор экстрагировали диэтиловым эфиром ( $3 \times 100$  мл), сушили ( $\text{MgSO}_4$ ), фильтровали и концентрировали. Затем остаток очищали с помощью колоночной хроматографии ( $\text{SiO}_2$ , 0-5% этилацетат/гептан) с получением 2-(трет-бутил- $d_9$ )-4-(трет-бутил)-6-d-5-нитрофенола (1,33 г, 30%) в виде светло-желтого твердого вещества. MS (ESI) 260,2 [(M-H)].

#### **Стадия 4: 5-Амино-2-(трет-бутил- $d_9$ )-4-(трет-бутил)-6-d-фенол**

[00126] Раствор 2-(трет-бутил- $d_9$ )-4-(трет-бутил)-6-d-5-нитрофенола (1,33 г, 5,11 ммоль) и формиата аммония (1,29 г, 20,4 ммоль) в этаноле (60,0 мл) нагревали с обратным холодильником. В это время небольшими порциями добавляли 10% Pd/C (650 мг, 50% влажность), и реакционную смесь продолжали перемешивать при кипячении с обратным холодильником в течение двух часов. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли THF, фильтровали через Celite® и концентрировали в вакууме с получением 5-амино-2-(трет-бутил- $d_9$ )-4-(трет-бутил)-6-d-фенола (1,19 г, 100%) в виде твердого вещества розового цвета. MS (ESI) 232,3 [(M+H)<sup>+</sup>].



### Стадия 5: 5-Амино-2-(трет-бутил-d<sub>9</sub>)-4-(трет-бутил)-фенол

[00127] 5-Амино-2-(трет-бутил-d<sub>9</sub>)-4-(трет-бутил)-6-d-фенол (298 мг, 1,29 ммоль) растворяли в 5 М HCl в 2-пропаноле (20 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 часов. Затем реакционную смесь концентрировали в вакууме и снова обрабатывали 5 М HCl в 2-пропаноле (20 мл). После перемешивания в течение еще 15 часов при комнатной температуре реакционную смесь концентрировали в вакууме и разбавляли насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (100 мл). Полученный водный раствор экстрагировали дихлорметаном (3×50 мл). Органические слои объединяли, сушили (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 5-амино-2-(трет-бутил-d<sub>9</sub>)-4-(трет-бутил)-фенола (240 мг, 81%) в виде твердого вещества розового цвета. <sup>1</sup>H ЯМР (d<sub>6</sub>-DMSO, 400 МГц) δ 8,62 (s, 1H), 6,83 (s, 1H), 6,08 (s, 1H), 1,27 (s, 9H).

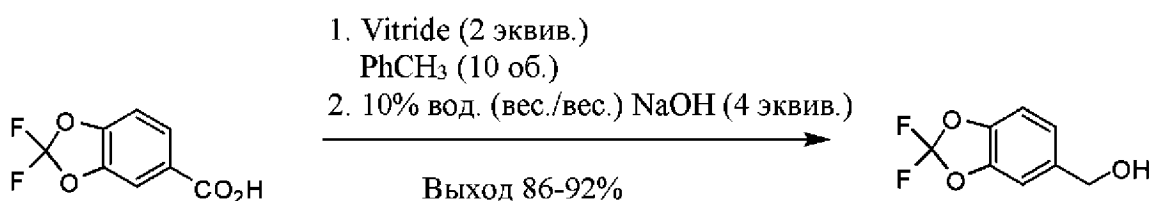
### Стадия 6: N-(2-(трет-Бутил)-4-(трет-бутил-d<sub>9</sub>)-5-гидроксифенил)-4-оксо-1,4-дигидрохиолин-3-карбоксамид (соединение III-d)

[00128] К раствору 5-амино-2-(трет-бутил-d<sub>9</sub>)-4-(трет-бутил)-фенола (240 мг, 1,04 ммоль), 4-оксо-1,4-дигидрохиолин-3-карбоновой кислоты (приобретенной у Matrix Scientific, 99 мг, 0,521 ммоль) и N, N-диизопропилэтиламина (181 мкл, 1,04 ммоль) в DMF (6,00 мл) добавляли HATU (198 мг, 0,521 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение трех часов, затем разбавляли насыщенным NaHCO<sub>3</sub> и экстрагировали этилацетатом (3×50 мл). Объединенные органические экстракты промывали водой (3×20 мл), сушили (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фильтровали и концентрировали в вакууме. Полученный остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (SiO<sub>2</sub>, 0-70% этилацетат/гептаны) с получением N-(2-(трет-бутил)-4-(трет-бутил-d<sub>9</sub>)-5-гидроксифенил)-4-оксо-1,4-дигидрохиолин-3-карбоксамид (соединение III-d) (80 мг, выход 38%) в виде белого твердого вещества. <sup>1</sup>H ЯМР (d<sub>6</sub>-DMSO, 400 МГц) δ 12,88 (s, 1H), 11,81 (s, 1H), 9,19 (s, 1H), 8,86 (s, 1H), 8,32 (dd, J=8,1, 1,4 Гц, 1H), 7,86-7,77 (m, 1H), 7,75 (d, J=8,2 Гц, 1H), 7,51 (s, 1H), 7,15 (s, 1H), 7,09 (s, 1H) 1,37 (s, 9H); MS (ESI) 402,3 [(M+H)<sup>+</sup>].

### Пример 5: Синтез 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)циклопропанкарбоксамидо)-3-метилпиридин-2-ил) бензойной кислоты (соединение IV)

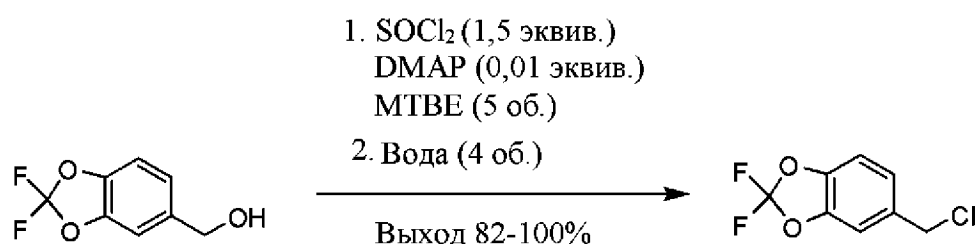
[00129] Vitride® (бис(2-метоксietокси)алюмогидрид натрия [или NaAlH<sub>2</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>], раствор 65 вес. % в толуоле) приобрели у Aldrich Chemicals. 2,2-Дифтор-1,3-бензодиоксол-5-карбоновую кислоту приобрели у Saltigo (дочерняя компания Lanxess Corporation).

#### Стадия 1: (2,2-Дифтор-1,3-бензодиоксол-5-ил)-метанол



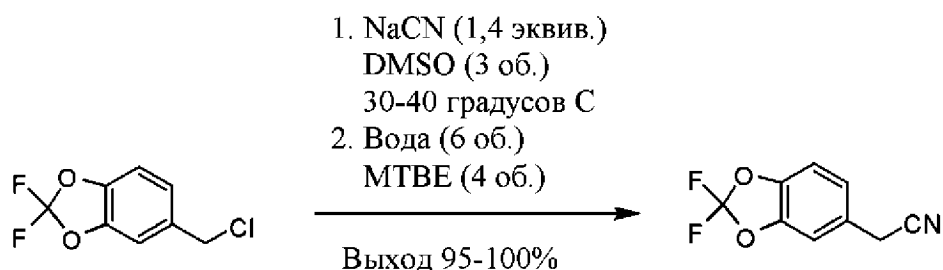
[00130] Коммерчески доступную 2,2-дифтор-1,3-бензодиоксол-5-карбоновую кислоту (1,0 экв.) суспендировали в толуоле (10 об.). Vitride® (2 экв.) добавляли через капельную воронку со скоростью, обеспечивающей поддержание температуры на уровне 15-25°C. В конце добавления температуру повышали до 40°C в течение 2 часов (ч), затем через капельную воронку осторожно добавляли 10% (вес./вес.) водный (вод.) NaOH (4,0 экв.), поддерживая температуру на уровне 40-50°C. После перемешивания в течение еще 30 минут (мин) слоям давали разделиться при 40°C. Органическую фазу охлаждали до 20°C, затем промывали водой (2×1,5 об.), сушили (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фильтровали и концентрировали с получением неочищенного (2,2-дифтор-1,3-бензодиоксол-5-ила)-метанола, который использовали непосредственно на следующей стадии.

**Стадия 2: 5-Хлорметил-2,2-дифтор-1,3-бензодиоксол**



[00131] (2,2-Дифтор-1,3-бензодиоксол-5-ил)-метанол (1,0 экв.) растворяли в MTBE (5 об.). Добавляли каталитическое количество 4-(N, N-диметил)аминопиридина (DMAP) (1 мол.%) и через капельную воронку добавляли SOCl<sub>2</sub> (1,2 экв.). SOCl<sub>2</sub> добавляли с такой скоростью, чтобы поддерживать температуру в реакторе на уровне 15-25°C. Температуру повышали до 30°C в течение 1 ч, а затем охлаждали до 20°C. Через капельную воронку добавляли воду (4 об.), поддерживая температуру на уровне менее 30°C. После перемешивания в течение еще 30 минут слоям давали разделиться. Органический слой перемешивали и добавляли 10% (вес./об.) водного NaOH (4,4 об.). После перемешивания в течение 15-20 минут слоям давали разделиться. Затем органическую фазу сушили (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фильтровали и концентрировали с получением неочищенного 5-хлорметил-2,2-дифтор-1,3-бензодиоксила, который использовали непосредственно на следующей стадии.

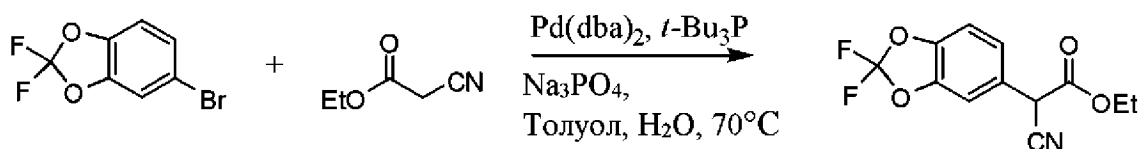
**Стадия 3: (2,2-Дифтор-1,3-бензодиоксол-5-ил)-ацетонитрил**



[00132] Раствор 5-хлорметил-2,2-дифтор-1,3-бензодиоксила (1 экв.) в DMSO (1,25 об.) добавляли к суспензии NaCN (1,4 экв.) в DMSO (3 об.), поддерживая температуру 30-40°C. Смесь перемешивали в течение 1 ч, затем добавляли воду (6 об.), а затем метил-*трет*-бутиловый эфир (MTBE) (4 об.). После перемешивания в течение 30 минут слои

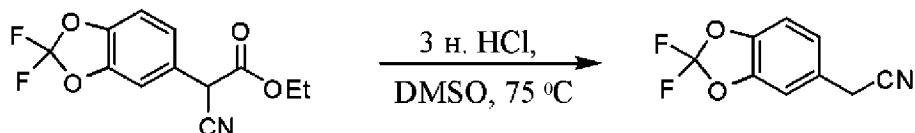
разделяли. Водный слой экстрагировали МТБЕ (1,8 об.). Объединенные органические слои промывали водой (1,8 об.), сушили ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), фильтровали и концентрировали с получением неочищенного (2,2-дифтор-1,3-бензодиоксол-5-ил)-ацетонитрила (95%), который использовали непосредственно на следующей стадии.  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц, DMSO)  $\delta$  7,44 (br s, 1H), 7,43 (d,  $J=8,4$  Гц, 1H), 7,22 (dd,  $J=8,2, 1,8$  Гц, 1H), 4,07 (s, 2H).

**Стадия 3b: Альтернативный синтез (2,2-дифтор-1,3-бензодиоксол-5-ил)-1-этилацетатацетонитрила**



[00133] Реактор продували азотом и загружали толуолом (900 мл). Растворитель дегазировали барботированием азотом в течение не менее 16 часов. Затем в реактор загружали  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  (155,7 г, 949,5 ммоль), а затем бис(дибензилиденацетон)-палладий (0) (7,28 г, 12,66 ммоль). Раствор 10% вес./вес. *трет*-бутилфосфина в гексане (51,23 г, 25,32 ммоль) загружали в течение 10 минут при  $23^\circ\text{C}$  из продуваемой азотом капельной воронки. Обеспечивали перемешивание смеси в течение 50 минут, после чего в течение 1 минуты добавляли 5-бром-2,2-дифтор-1,3-бензодиоксол (75 г, 316,5 ммоль). После перемешивания в течение еще 50 минут в смесь загружали этилцианоацетат (71,6 г, 633,0 ммоль) в течение 5 минут, а затем воду (4,5 мл) одной порцией. Смесь нагревали до  $70^\circ\text{C}$  в течение 40 минут и каждые 1-2 часа анализировали с помощью HPLC для определения процента превращения реагента в продукт. После того, как наблюдали полное превращение (обычно 100% превращение через 5-8 часов), смесь охлаждали до  $20\text{-}25^\circ\text{C}$  и фильтровали через слой целита. Слой целита промывали толуолом (2 X 450 мл), и объединенные органические слои концентрировали до 300 мл в вакууме при  $60\text{-}65^\circ\text{C}$ . В концентрат загружали DMSO (225 мл) и концентрировали в вакууме при  $70\text{-}80^\circ\text{C}$  до прекращения активной отгонки растворителя. Раствор охлаждали до  $20\text{-}25^\circ\text{C}$  и разбавляли до 900 мл с DMSO при подготовке к стадии 3c.  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,16-7,10 (m, 2H), 7,03 (d,  $J=8,2$  Гц, 1H), 4,63 (s, 1H), 4,19 (m, 2H), 1,23 (t,  $J=7,1$  Гц, 3H).

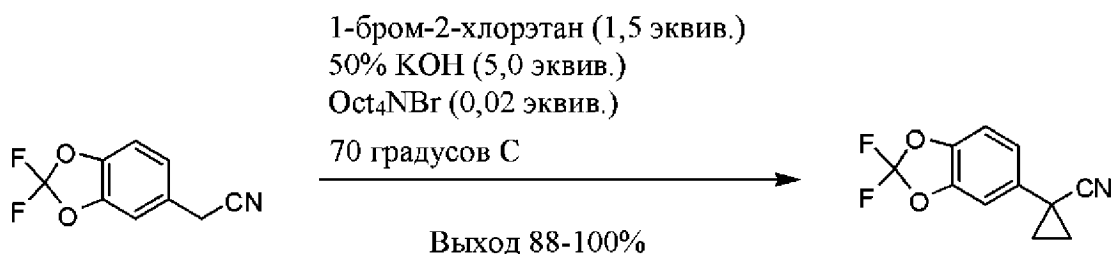
**Стадия 3c: Альтернативный синтез (2,2-дифтор-1,3-бензодиоксол-5-ил)-ацетонитрила**



[00134] В раствор (2,2-дифтор-1,3-бензодиоксол-5-ил)-1-этилацетат-ацетонитрила в DMSO, указанный выше, загружали 3 н HCl (617,3 мл, 1,85 моль) в течение 20 минут, поддерживая внутреннюю температуру менее  $40^\circ\text{C}$ . Затем смесь нагревали до  $75^\circ\text{C}$  в течение 1 часа и каждые 1-2 часа анализировали с помощью HPLC для определения

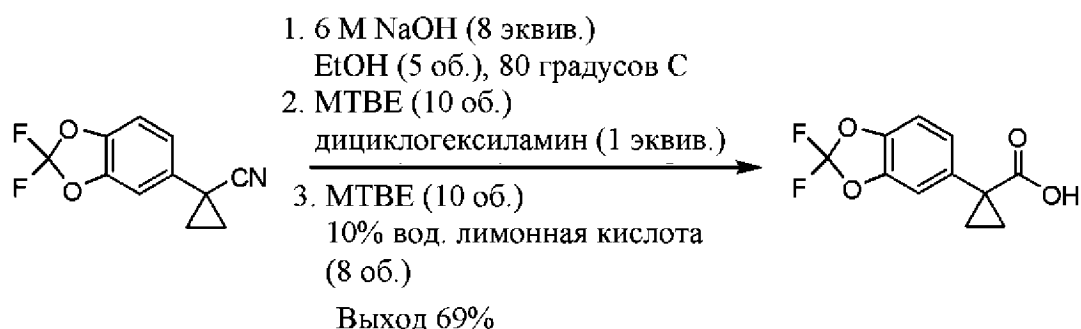
процента превращения. Когда наблюдали превращение более 99% (обычно через 5-6 часов), реакционную смесь охлаждали до 20-25°C и экстрагировали МТВЕ (2 X 525 мл) достаточное время, чтобы обеспечить полное разделение фаз в ходе экстракции. Объединенные органические экстракты промывали 5% NaCl (2 X 375 мл). Затем раствор переносили в оборудование, подходящее для вакуумной перегонки при 1,5-2,5 мм рт. ст., которое было снабжено охлаждаемой колбой-приемником. Раствор концентрировали под вакуумом при температуре менее 60°C для удаления растворителей. Затем (2,2-дифтор-1,3-бензодиоксол-5-ил)-ацетонитрил отгоняли из полученного масла при 125-130°C (температура сушильного шкафа) и 1,5-2,0 мм рт. ст. (2,2-Дифтор-1,3-бензодиоксол-5-ил)-ацетонитрил выделяли в виде прозрачного масла с выходом 66% из 5-бром-2,2-дифтор-1,3-бензодиоксола (2 стадии) и с чистотой по HPLC 91,5% AUC (соответствует 95% согласно анализу по вес./вес.). <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, DMSO) δ 7,44 (br s, 1H), 7,43 (d, J=8,4 Гц, 1H), 7,22 (dd, J=8,2, 1,8 Гц, 1H), 4,07 (s, 2H).

#### Стадия 4: (2,2-Дифтор-1,3-бензодиоксол-5-ил)-циклопропанкарбонитрил



[00135] Смесь (2,2-дифтор-1,3-бензодиоксол-5-ил)-ацетонитрила (1,0 экв.), 50 вес. % водного KOH (5,0 экв.), 1-бром-2-хлорэтана (1,5 экв.) и Oct<sub>4</sub>NBr (0,02 экв.) нагревали при 70°C в течение 1 часа. Реакционную смесь охлаждали, затем обрабатывали МТВЕ и водой. Органическую фазу промывали водой и рассолом. Растворитель удаляли с получением (2,2-дифтор-1,3-бензодиоксол-5-ил)-циклопропанкарбонитрила. <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, DMSO) δ 7,43 (d, J=8,4 Гц, 1H), 7,40 (d, J=1,9 Гц, 1H), 7,30 (dd, J=8,4, 1,9 Гц, 1H), 1,75 (m, 2H), 1,53 (m, 2H).

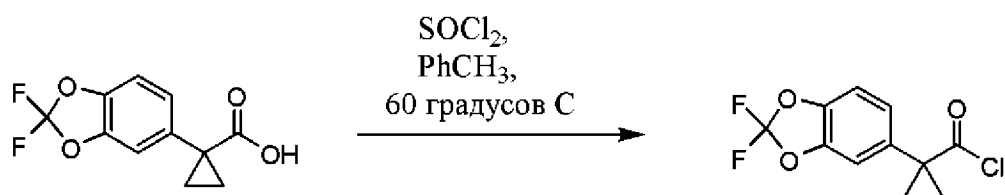
#### Стадия 5: 1-(2,2-Дифтор-1,3-бензодиоксол-5-ил)-циклопропанкарбоновая кислота



[00136] (2,2-Дифтор-1,3-бензодиоксол-5-ил)-циклопропанкарбонитрил гидролизовали с использованием 6 М NaOH (8 экв.) в этаноле (5 об.) при 80°C в течение

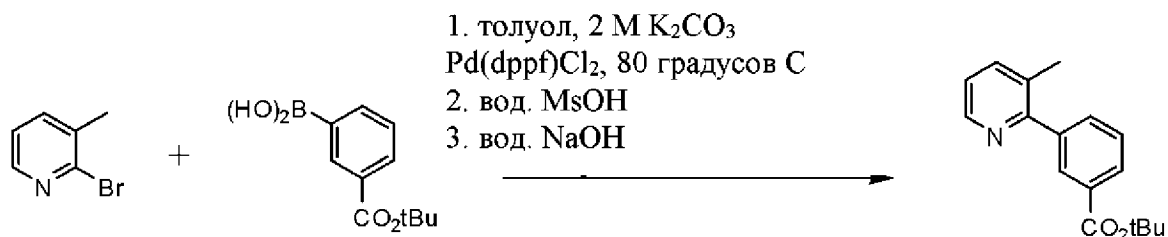
ночи. Смесь охлаждали до комнатной температуры и этанол выпаривали в вакууме. Остаток растворяли в воде, добавляли МТВЕ, 1 М HCl и слои разделяли. Затем слой МТВЕ обрабатывали дициклогексиламином (ДСНА) (0,97 экв.). Суспензию охлаждали до 0°C, фильтровали и промывали гептаном с получением соответствующей соли ДСНА. Соль переносили в МТВЕ и 10% лимонную кислоту и перемешивали до растворения всех твердых веществ. Слои разделяли, и слой МТВЕ промывали водой и рассолом. Замена растворителя на гептан с последующей фильтрацией давала 1-(2,2-дифтор-1,3-бензодиоксол-5-ил)циклопропанкарбоновую кислоту после сушки в вакуумном сушильном шкафу при 50°C в течение ночи. Значение m/z ESI-MS расчетное 242,04, установленное 241,58 (M+1)+; 1H ЯМР (500 МГц, DMSO)  $\delta$  12,40 (s, 1H), 7,40 (d, J=1,6 Гц, 1H), 7,30 (d, J=8,3 Гц, 1H), 7,17 (dd, J=8,3, 1,7 Гц, 1H), 1,46 (m, 2H), 1,17 (m, 2H).

#### Стадия 6: 1-(2,2-Дифтор-1,3-бензодиоксол-5-ил)-циклопропанкарбонилхлорид



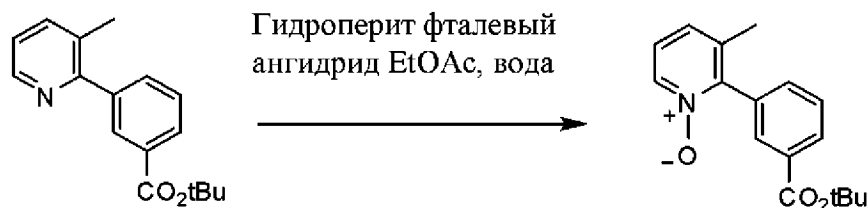
[00137] 1-(2,2-Дифтор-1,3-бензодиоксол-5-ил) циклопропанкарбоновую кислоту (1,2 экв.) суспендировали в толуоле (2,5 об.) и смесь нагревали до 60°C. Добавляли SOCl<sub>2</sub> (1,4 экв.) через капельную воронку. Толуол и SOCl<sub>2</sub> отгоняли из реакционной смеси через 30 минут. Добавляли дополнительное количество толуола (2,5 об.) и полученную смесь снова перегоняли, оставляя хлорангидрид продукта в виде масла, который использовали без дополнительной очистки.

#### Стадия 7: трет-Бутил-3-(3-метилпиридин-2-ил)бензоат



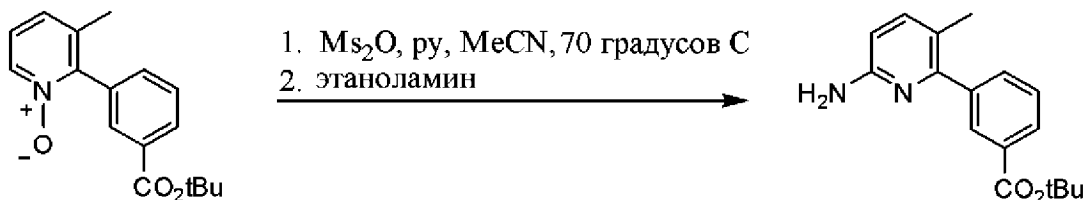
[00138] 2-Бром-3-метилпиридин (1,0 экв.) растворяли в толуоле (12 об.). Добавляли K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4,8 экв.), а затем воду (3,5 об.). Полученную смесь нагревали до 65°C в токе N<sub>2</sub> в течение 1 часа. Затем добавляли 3-(трет-бутоксикарбонил)фенилбороновую кислоту (1,05 экв.) и Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,015 экв.), и смесь нагревали до 80°C. Через 2 часа нагрев отключали, добавляли воду (3,5 об.) и давали возможность слоям разделиться. Затем органическую фазу промывали водой (3,5 об.) и экстрагировали 10% водной метансульфоновой кислотой (2 экв. MsOH, 7,7 об.). Водную фазу подщелачивали 50% водным NaOH (2 экв.) и экстрагировали EtOAc (8 об.). Органический слой концентрировали с получением неочищенного трет-бутил-3-(3-метилпиридин-2-ил)бензоата (82%), который использовали непосредственно на следующей стадии.

### Стадия 8: 2-(3-(трет-Бутоксикарбонил)фенил)-3-метилпиридин-1-оксид



[00139] трет-Бутил-3-(3-метилпиридин-2-ил)бензоат (1,0 экв.) растворяли в EtOAc (6 об.). Добавляли воду (0,3 об.), затем гидроперит (3 экв.). Затем к смеси порциями добавляли фталевый ангидрид (3 экв.) в виде твердого вещества с такой скоростью, чтобы поддерживать температуру в реакторе ниже 45°C. После завершения добавления фталевого ангидрида смесь нагревали до 45°C. После перемешивания в течение еще 4 часов нагрев отключали. Через капельную воронку добавляли 10% вес./вес. водный Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (1,5 экв.). После завершения добавления Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> смесь перемешивали еще 30 минут и слои разделяли. Органический слой перемешивали и добавляли 10% вес./вес. водный Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2 экв.). После перемешивания в течение 30 минут слоям давали разделиться. Органическую фазу промывали 13% вес./об. водным NaCl. Затем органическую фазу фильтровали и концентрировали с получением неочищенного 2-(3-(трет-бутоксикарбонил)фенил)-3-метилпиридин-1-оксида (95%), который использовали непосредственно на следующей стадии.

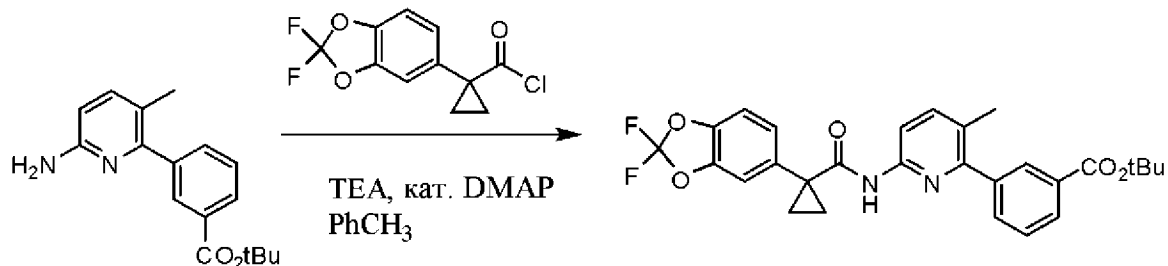
### Стадия 9: трет-Бутил-3-(6-амино-3-метилпиридин-2-ил)бензоат



[00140] Раствор 2-(3-(трет-бутоксикарбонил)фенил)-3-метилпиридин-1-оксида (1 экв.) и пиридина (4 экв.) в ацетонитриле (8 об.) нагревали до 70°C. Раствор метансульфонового ангидрида (1,5 экв.) в MeCN (2 об.) добавляли в течение 50 минут через капельную воронку, поддерживая температуру менее 75°C. После завершения добавления смесь перемешивали еще 0,5 часа. Затем смеси давали остыть до температуры окружающей среды. Добавляли этаноламин (10 экв.) через капельную воронку. После перемешивания в течение 2 часов добавляли воду (6 об.) и смесь охлаждали до 10°C. После перемешивания в течение 3 часов твердое вещество собирали фильтрацией и промывали водой (3 об.), смесью 2:1 ацетонитрил/вода (3 об.) и ацетонитрилом (2×1,5 об.). Твердое вещество сушили до постоянного веса (разница <1%) в вакуумном сушильном шкафу при 50°C с небольшим выпуском N<sub>2</sub> с получением трет-бутил-3-(6-амино-3-метилпиридин-2-ил)бензоата в виде красно-желтого твердого вещества (выход 53%).

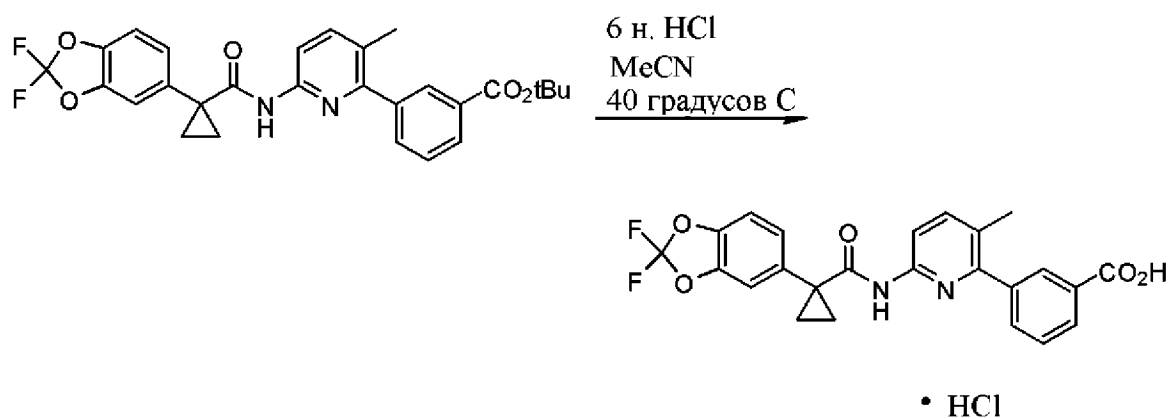
Стадия 10: 3-(6-(1-(2,2-Дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-

**циклопропанкарбоксамидо)-3-метилпиридин-2-ил)-t-бутилбензоат**



[00141] Неочищенный хлорангидрид, описанный выше, растворяли в толуоле (2,5 об. в расчете на хлорангидрид) и добавляли через капельную воронку к смеси трет-бутил-3-(6-амино-3-метилпиридин-2-ил)бензоата (1 экв.), DMAP (0,02 экв.) и триэтиламина (3,0 экв.) в толуоле (4 об. в расчете на трет-бутил-3-(6-амино-3-метилпиридин-2-ил)бензоат). Через 2 часа к реакционной смеси добавляли воду (4 об. в расчете на трет-бутил-3-(6-амино-3-метилпиридин-2-ил)бензоат). После перемешивания в течение 30 минут слои разделяли. Затем органическую фазу фильтровали и концентрировали с получением густого масла 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)циклопропанкарбоксамидо)-3-метилпиридин-2-ил)-t-бутилбензоата (количественный выход неочищенного вещества). Добавляли ацетонитрил (3 об. в расчете на неочищенный продукт) и перегоняли до кристаллизации. Добавляли воду (2 об. в расчете на неочищенный продукт) и смесь перемешивали в течение 2 часов. Твердое вещество собирали фильтрованием, промывали смесью 1:1 (по объему) ацетонитрил/вода (2×1 объем в расчете на неочищенный продукт) и частично сушили на фильтре под вакуумом. Твердое вещество сушили до постоянного веса (разница <1%) в вакуумном сушильном шкафу при 60°C с небольшим выпуском N<sub>2</sub> с получением 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)циклопропанкарбоксамидо)-3-метилпиридин-2-ил)-t-бутилбензоата в виде коричневого твердого вещества.

**Стадия 11: Соль 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)циклопропанкарбоксамидо)-3-метилпиридин-2-ил)бензойной кислоты • HCl**



[00142] К суспензии 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо [d][1,3] диоксол-5-ил)циклопропанкарбоксамидо)-3-метилпиридин-2-ил)трет-бутилбензоата (1,0 экв.) в MeCN (3,0 об.) добавляли воду (0,83 об.), а затем концентрированную водную HCl (0,83

об.). Смесь нагревали до  $45 \pm 5^\circ\text{C}$ . После перемешивания в течение 24-48 часов реакция завершалась, и смеси давали остыть до температуры окружающей среды. Добавляли воду (1,33 об.) и смесь перемешивали. Твердое вещество собирали фильтрованием, промывали водой ( $2 \times 0,3$  об.) и частично сушили на фильтре под вакуумом. Твердое вещество сушили до постоянного веса (разница  $<1\%$ ) в вакуумном сушильном шкафу при  $60^\circ\text{C}$  с небольшим выпуском  $\text{N}_2$  с получением 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)циклопропанкарбоксамидо)-3-метилпиридин-2-ил)бензойной кислоты • HCl в виде белесого твердого вещества.

**Таблица 7: Физические данные для соединения IV**

Соединение	LC/MS M+1	LC/RT минуты	ЯМР
Соединение IV	453,3	1,93	$^1\text{H}$ ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) 9,14 (s, 1H), 7,99-7,93 (m, 3H), 7,80-7,78 (m, 1H), 7,74-7,72 (m, 1H), 7,60-7,55 (m, 2H), 7,41-7,33 (m, 2H), 2,24 (s, 3H), 1,53-1,51 (m, 2H), 1,19-1,17 (m, 2H).

**Пример 6. Получение таблетки, содержащей 5 мг соединения I**

[00143] Микрористаллическую целлюлозу пропускают через сито из нержавеющей стали (30 меш) и загружают 210,1 г в контейнер Bohle объемом 10 л. Соединение I пропускают через сито из нержавеющей стали (30 меш) и загружают 210,0 г в контейнер Bohle на 10 л. Контейнер герметично закрывают, и компоненты смешивают в течение 2 минут при скорости 32 об./мин, чтобы получить смесь микрористаллической целлюлозы/соединения I. Смесь микрористаллической целлюлозы/соединения I выгружают в контейнер из нержавеющей стали. Следующие материалы просеивают через сито из нержавеющей стали на 30 меш и добавляют в контейнер Bohle объемом 10 л в следующем порядке: лактоза (примерно половина от 1022,2 г), микрористаллическая целлюлоза (примерно половина от 812 г), смесь микрористаллической целлюлозы/соединения I, поливинилпирролидон/винилацетат (210,1 г), кроскарбоксиметилцеллюлоза натрия (133 г), микрористаллическая целлюлоза (оставшаяся половина от количества 812 г) и лактоза (оставшаяся половина от количества 1022,2 г). Контейнер герметично закрывают, и компоненты смешивают в течение 18,5 минут при скорости 32 об./мин. Стеарилфумарат натрия ргив® пропускают через сито из нержавеющей стали на 60 меш, и 53,1 г загружают в контейнер Bohle. Контейнер герметично закрывают, и компоненты смешивают в течение 4 минут при скорости 32 об./мин. Контейнер проверяют на однородность. Смесь добавляют в таблеточный пресс Piscoła и прессуют в таблетки весом 67,0 мг.

**Таблица 8: Состав таблетки на основе соединения I**

Компонент	% вес./вес. таблетки (прибл.)	Количество в таблетке (прибл.)



Компонент	% вес./вес. таблетки (прибл.)	Количество в таблетке (прибл.)
Соединение I (соль Ca)	8	5 мг
Микрокристаллическая целлюлоза (предварительная смесь)	8	5 мг
поливинилпирролидон/винилацетат	8	5 мг
Микрокристаллическая целлюлоза (таблеточная смесь)	31	21 мг
Лактозы моногидрат	38	26 мг
кроскарбоксиметилцеллюлоза натрия	5	3 мг
Стеарилфумарат натрия ргив®	2	1 мг

### Пример 7. Анализ биологической активности

#### Растворы

[00144] Основная среда (ADF+++), состояла из Advanced DMEM/Ham F12, 2 mM GlutaMax, 10 mM HEPES, 1 мкг/мл пенициллин/стрептомицин.

[00145] Среда для поддержания эпителиальных органоидов тонкого кишечника (Intestinal enteroid maintenance medium, IEMM) состояла из ADF+++, 1x добавки B27, 1x добавки N2, 1,25 mM N-ацетилцистеина, 10 mM никотинамида, 50 нг/мл hEGF, 10 нМ гастрин, 1 мкг/мл hR-spondin-1, 100 нг/мл hNoggin, ингибитора TGF- $\beta$  типа 1 A-83-01, 100 мкг/мл Primocin, 10 мкМ ингибитора MAPK P38 SB202190.

[00146] Буфер Bath 1 состоял из 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 160 mM NaCl, 4,5 mM KCl, 10 mM HEPES, 10 mM глюкозы, 2 mM CaCl<sub>2</sub>.

[00147] Буфер, не содержащий хлоридов, состоял из 1 mM глюконата магния, 2 mM глюконата кальция, 4,5 mM глюконата калия, 160 mM глюконата натрия, 10 mM HEPES, 10 mM глюкозы.

[00148] Раствор красителя Bath1 состоял из буфера Bath 1, 0,04% Pluronic F127, 20 мкМ метилоксанола, 30 мкМ CaCCinh-A01, 30 мкМ Chicago Sky Blue.

[00149] Раствор красителя, не содержащий хлоридов, состоял из буфера, не содержащего хлоридов, 0,04% Pluronic F127, 20 мкМ метилоксанола, 30 мкМ CaCCinh-A01, 30 мкМ Chicago Sky Blue.

[00150] Стимулирующий раствор с красителем, не содержащим хлоридов, состоял из раствора красителя, не содержащего хлоридов, 10 мкМ форсколина, 100 мкМ IBMX и 300 нМ соединения III.

#### Культура клеток

[00151] Клетки эпителиальных органоидов тонкого кишечника человека получили из Института биологии развития и исследований стволовых клеток им. Хубрехта, Утрехт, Нидерланды, и размножали в T-колбах, как ранее описано (Dekkers JF, Wiegerinck CL, de Jonge HR, Bronsveld I, Janssens HM, de Winter-de Groot KM, Brandsma AM, de Jong NWM,

Bijvelds MJC, Scholte BJ, Nieuwenhuis EES, van den Brink S, Clevers H, van der Ent CK, Middendorp S and M Beekman JM. A functional CFTR assay using primary cystic fibrosis intestinal organoids. Nat Med. 2013 Jul;19(7):939-45.

#### **Сбор и посев клеток эпителиальных органоидов тонкого кишечника**

[00152] Клетки восстанавливали в растворе для восстановления клеток, собирали центрифугированием при 650 об./мин в течение 5 минут при 4°C, ресуспендировали в TgUPE и инкубировали в течение 5 минут при 37°C. Затем клетки собирали центрифугированием при 650 об./мин в течение 5 минут при 4°C и ресуспендировали в IEMM, содержащей 10 мкМ ингибитора ROCK (RI). Суспензию клеток пропускали через клеточное сито на 40 мкм и ресуспендировали при концентрации 1×10<sup>6</sup> клеток/мл в IEMM, содержащей 10 мкМ RI. Клетки высевали по 5000 клеток/лунку в многолуночные планшеты и инкубировали в течение ночи при 37°C, 95% влажности и 5% CO<sub>2</sub> перед анализом.

#### **Анализ мембранного потенциала с красителем**

[00153] Клетки эпителиальных органоидов тонкого кишечника инкубировали с тестируемым соединением в IEMM в течение 18-24 часов при 37°C, 95% влажности и 5% CO<sub>2</sub>. После инкубации соединений использовали анализ мембранного потенциала с красителем при помощи FLIPR Tetra для прямого измерения активности и эффективности тестируемого соединения в отношении опосредованного CFTR транспорта хлоридов после острого добавления 10 мкМ форсколина и 300 нМ соединения III. Вкратце, клетки промывали 5 раз в буфере Bath 1. Добавляли раствор красителя Bath 1 и клетки инкубировали в течение 25 минут при комнатной температуре. После инкубации с красителем клетки промывали 3 раза раствором красителя, не содержащим хлоридов. Транспорт хлоридов инициировали добавлением стимулирующего раствора с красителем, не содержащим хлоридов, и считывали сигнал флуоресценции в течение 15 мин. Опосредованный CFTR транспорт хлоридов для каждого состояния определяли по AUC флуоресцентного ответа на острую стимуляцию форсколином и 300 нМ соединения III. Затем транспорт хлоридов выражали как процент от транспорта хлоридов после обработки тройной контрольной комбинацией с 3 мкМ соединения I, 3 мкМ соединения II и 300 нМ соединения III для острой реакции (% активности).

[00154] Нижеследующее отражает данные в таблице 9:

Максимальная активность: +++ составляет >60%; ++ составляет 30-60%; + составляет <30%. EC50: +++ составляет <1 мкМ; ++ составляет 1-3 мкМ; + составляет >3 мкМ; и ND представляет «не определено.»

**Таблица 9: Данные анализа для соединения I**

<b>Молекула</b>	<b>Максимальная активность</b>	<b>EC50</b>
Соединение I	+++	+++

**Пример 8.**

**Соединение I увеличивает транспорт хлоридов отдельно и в комбинации с соединением II и/или соединением III в F508del/F508del HBE и F508del/MF HBE**

[00155] Проводили исследования в камере Уссинга для измерения опосредованного F508del CFTR транспорта хлоридов в клетках HBE, полученных от 3 гомозиготных по F508del доноров и 5 доноров F508del/MF (G542X, 3 донора; E585X, 1 донор; 3905InsT, 1 донор). В качестве положительного контроля максимально эффективные концентрации N-(бензолсульфонил)-6-[3-[2-[1-(трифторметил)циклопропил]этокси]пиразол-1-ил]-2-[(4S)-2,2,4-триметилпирролидин-1-ил]пиридин-3-карбоксамид (см. WO 2018/064632) и N-[(6-амино-2-пиридил)сульфонил]-6-(3-фтор-5-изобутоксифенил)-2-[(4S)-2,2,4-триметилпирролидин-1-ил]пиридин-3-карбоксамид (см. WO 2016/057572) в комбинации с соединением II/соединением III включали в каждый эксперимент.

[00156] В этих клеточных линиях CF опосредованный CFTR транспорт хлоридов был низким в отсутствие модуляторов CFTR, что согласуется с низким содержанием CFTR на поверхности клетки или его отсутствием. Обработка соединением I отдельно в течение 16-24 часов вызывала умеренное увеличение транспорта хлоридов как в клетках F508del/F508del HBE, так и в F508del/MF HBE. Комбинация соединения I и соединения II дополнительно увеличивала транспорт хлоридов по сравнению с соединением I отдельно и была аналогична комбинации соединения II/соединения III. Добавление соединения III резко усиливало транспорт хлоридов в присутствии соединения I или комбинации соединения I/соединения II. Анализ синергизма показал, что действие соединения I было высоко синергичным с фиксированной концентрацией соединения III или комбинации соединения II/соединения III и было умеренно синергичным с фиксированной комбинацией соединения II. При большинстве концентраций соединения I комбинация соединения I/соединения II/соединения III увеличивала транспорт хлоридов больше, чем комбинация соединения I/соединения II или соединения I/соединения III. Однако эффективность комбинации соединения I/соединения III и соединения I/соединения II/соединения III была аналогичной при их соответствующих значениях EC90. Соответствующие значения EC90 в условиях, которые максимально активируют CFTR, для комбинаций соединения I/соединения III и соединения I/соединения II/соединения III составляли 0,848 мкМ и 0,152 мкМ в F508del/F508del HBE и 1,15 мкМ и 0,122 мкМ в F508del/MF HBE.

[00157] После однократного перорального введения соединения I самцам животных средние значения  $t_{max}$  соединения I составляли 9 часов для крыс, 4 часа для собак и 3 часа для обезьян. Средняя пероральная биодоступность (F) была от низкой до умеренной у крыс (76,9%), собак (49,7%) и обезьян (12,9%).

Фармакокинетические параметры соединения I после однократного перорального введения соединения I самцам крыс, собак и обезьян

Вид	доза (мг/кг)	Номинальная $AUC_{0-\infty}$				
		( $\mu\text{г}\cdot\text{ч}/\text{мл}$ )	$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{г}/\text{мл}$ )	$t_{\text{max}}$ (ч)	$t_{1/2}$ (ч)	F (%)
Крыса	3	$31,9 \pm 11,1$	$1,10 \pm 0,337$	$9,33 \pm 2,31$	$22,6 \pm 2,83$	76,9
Собака	1	$38,5 \pm 4,70$	$2,44 \pm 0,178$	$4,00 \pm 0,00$	$11,1 \pm 1,09$	49,7
Обезьяна	1	$0,795 \pm 0,233$	$0,102 \pm 0,0132$	$3,33 \pm 1,15$	$3,07 \pm 1,16$	12,9

Примечание: Данные представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартное отклонение (n=3).

[00158] По мере увеличения дозы системное воздействие соединения I увеличивалось более чем дозозависимым образом у крыс и собак. Нормализованное по дозе воздействие было выше у самок крыс, чем у самцов. У собак системное воздействие соединения I было одинаковым у обоих полов. После повторного перорального введения соединения I в течение 28 дней крысам и собакам наблюдали накопление воздействия соединения I. Системное воздействие соединения I в день 28 было выше, чем в день 1 (соотношение  $AUC_{0-24\text{ч}}$  в день 28/день 1 варьировало от 1,63 до 2,70 у самцов крыс, от 5,01 до 8,26 у самок крыс, от 1,73 до 2,64 у самцов собак и от 1,82 до 2,23 у самок собак).

#### **Пример 9. Исследование по безопасности и эффективности соединения I**

[00159] Анализ безопасности продолжающегося клинического исследования проводили для 37 субъектов в когортах от A1 до A5, 33 субъектов в когорте B и 17 субъектов в когорте C, которые принимали по меньшей мере 1 дозу исследуемого лекарственного средства (соединение I или плацебо) в качестве монотерапии и в качестве части тройной комбинации с соединением II или соединением III. Соединение I в целом было безопасным и хорошо переносилось до дозы 60 мг 1 раз в день в виде монотерапии и 20 мг 1 раз в день в тройной комбинации с соединением II и соединением III.

#### **Планируемые исследования эффективности**

[00160] Это испытание представляет собой фазу 2, трехчастное, рандомизированное, двойное слепое, плацебо- и TEZ/IVA-контролируемое, подтверждающее концепцию исследование соединения I. Части исследования могут проводиться параллельно или последовательно. Рандомизация стратифицирована по ppFEV<sub>1</sub>.

#### **Часть 1: Субъекты с генотипами F508del/MF**

[00161] В Части 1 оценивают соединение I в тройной комбинации с соединением II и соединением III-d, как показано в таблице ниже.

Период вымывания ( $18 \pm 3$  дня) включен, чтобы дать возможность более тщательной оценки взаимосвязи «воздействие-реакция» для соединения I путем проведения оценок PK и PD во время вымывания соединения I.

Планируемые дозы

Планируемые дозы соединения **I**, равные 5 мг, 10 мг и 20 мг 1 раз в день, могут быть скорректированы исходя из новых данных.

Дозировка соединения **II** составляет 100 мг 1 раз в день (один раз в сутки), а соединения **III-d** составляет 150 мг 1 раз в день.

Период лечения Период вымывания

(4 недели) (18 ± 3 дня)

Период отбора (4 недели)	ТС-20 мг (Cpd I/Cpd II/Cpd III-d) N=18	Cpd II/Cpd III-d	Период последующего наблюдения для оценки безопасности (4 недели)
	ТС-10 мг (Cpd I/Cpd II/Cpd III-d) N=18		
	ТС-5 мг (Cpd I/Cpd II/Cpd III-d) N=9		
	Тройное плацебо N=9	Двойное плацебо	

**Часть 2 (необязательно): Субъекты с генотипом F508del/ F508del**

[00162] Все субъекты должны пройти вводный период для соединения **II**/соединения **III** для установления безопасного исходного уровня во время лечения (Cpd **II**/Cpd **III**). 4-Недельный период вымывания включен для оценки влияния на PD и конечные точки эффективности при переходе субъектов от тройной комбинации к Cpd **II**/Cpd **III** после вымывания соединения **I**.

Планируемые дозы

В Части 2 оценивается та же доза соединения **I** (20 мг 1 раз в день), которую использовали в Части 1. Эта доза может быть скорректирована в сторону уменьшения исходя из новых данных Части D Исследования 001.

Дозировка соединения **II** составляет 100 мг 1 раз в день, а соединения **III-d** составляет 150 мг 1 раз в день.

Дозировка соединения **II**/соединения **III** составляет 100 мг 1 раз в день соединения **II**/ 150 мг каждые 12 часов (q12h) соединения **III**

Вводный Период

период Период лечения вымывания

Период отбора (4 недели)	Cpd II/ Cpd III	ТС-20 мг (Cpd I/Cpd II/Cpd III-d) N=18	Cpd II/ Cpd III	Период последующего наблюдения для оценки безопасности (4 недели)
		Плацебо+Cpd II/Cpd III N=9		

(4 недели) (4 недели) (4 недели)

**Часть 3 (необязательно): Субъекты с генотипами F508del/MF**

[00163] Период вымывания (18 ± 3 дня) включен, чтобы дать возможность более

тщательной оценки взаимосвязи «воздействие-реакция» для соединения **I** путем проведения оценок РК и PD во время вымывания соединения **I**.

Планируемые дозы

В Части 3 оценивается та же доза соединения **I** (20 мг 1 раз в день), которую использовали в Части 1. Эта доза может быть скорректирована исходя из новых данных.

Дозировка соединения **II**/соединения **III** составляет 100 мг 1 раз в день соединения **II**/ 150 мг каждые 12 часов (q12h) соединения **III**

Период лечения Период

(4 недели) вымывания

Период отбора (4 недели)	ТС-20 мг (Cpd I/Cpd II/Cpd III) N=18	Cpd II/ Cpd III	Период последующего наблюдения для оценки безопасности (4 недели)
	Тройное плацебо N=9	Двойное плацебо	

(18 ± 3 дня)

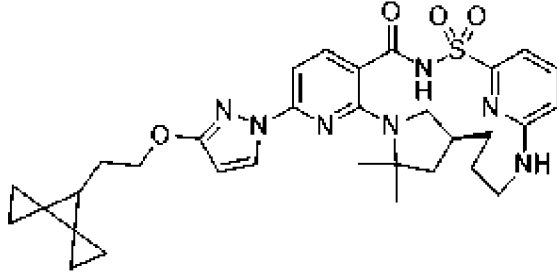
**Другие варианты осуществления**

[00164] Вышеизложенное обсуждение раскрывает и описывает только иллюстративные варианты осуществления данного изобретения. Специалисту в данной области техники будет понятно из такого обсуждения и из прилагаемых графических материалов и формулы изобретения, что в них могут быть внесены различные изменения, модификации и вариации, не выходящие за рамки сущности и объема этого изобретения, как определено в следующей формуле изобретения.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения муковисцидоза, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту:

(A) от 5 мг до 20 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **I**

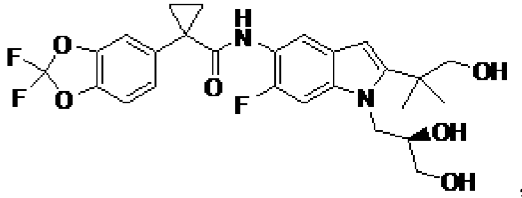


**I**

и его фармацевтически приемлемых солей, ежедневно и

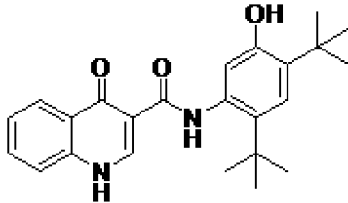
(B) по меньшей мере одного соединения, выбранного из:

(i) соединения **II**:



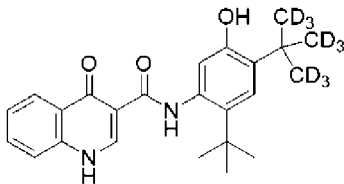
и его фармацевтически приемлемых солей, и

(ii) (a) соединения **III**:



и его фармацевтически приемлемых солей или

(b) соединения **III-d**:



и его фармацевтически приемлемых солей.

2. Способ по п. 1, включающий введение указанному пациенту:

(a) по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей;

(b) по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **II** и его фармацевтически приемлемых солей; и

(c) по меньшей мере одного соединения, выбранного из (i) соединения **III** и его фармацевтически приемлемых солей или (ii) соединения **III-d** и его фармацевтически

приемлемых солей.

3. Способ по п. 1, включающий введение указанному пациенту:

(a) по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей;

(b) по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **II** и его фармацевтически приемлемых солей; и

(c) по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **III** и его фармацевтически приемлемых солей.

4. Способ по п. 1, включающий введение указанному пациенту:

(a) по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей;

(b) по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **II** и его фармацевтически приемлемых солей; и

(c) по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения **III-d** и его фармацевтически приемлемых солей.

5. Способ по п. 1, где по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в одной композиции с по меньшей мере одним соединением, выбранным из соединения **II**, соединения **III**, соединения **III-d** и их фармацевтически приемлемых солей.

6. Способ по п. 1, где по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, и по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **II**, соединения **III**, соединения **III-d** и их фармацевтически приемлемых солей, вводят в одной или более отдельных композициях.

7. Способ по п. 1, где первую фармацевтическую композицию, содержащую по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в комбинации со второй фармацевтической композицией, содержащей по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **II**, соединения **III**, соединения **III-d** и их фармацевтически приемлемых солей.

8. Способ по п. 1, где первую фармацевтическую композицию, содержащую по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в комбинации со второй фармацевтической композицией, содержащей (a) по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **II** и его фармацевтически приемлемых солей; и (b) по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **III**, соединения **III-d** и их фармацевтически приемлемых солей.

9. Способ по п. 1, где первую фармацевтическую композицию, содержащую по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения **I** и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в комбинации со второй фармацевтической композицией, содержащей соединение **II** и соединение **III-d**.

10. Способ по п. 1, включающий введение одной композиции, содержащей соединение **I** или его фармацевтически приемлемую соль, соединение **II** и соединение **III-**



**d.**

11. Способ по любому из пп. 1-10, где 5 мг, 10 мг или 20 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят ежедневно.

12. Способ по п. 11, где соединение **I** или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде одной дозы один раз в день.

13. Способ по п. 11, где соединение **I** или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде двух доз ежедневно.

14. Способ по любому из пп. 1-11, где 20 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят в виде от одной до четырех доз ежедневно.

15. Способ по любому из пп. 1-14, где от 50 мг до 150 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят ежедневно.

16. Способ по п. 15, где 50 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли на дозу вводят один раз в день или два раза в день.

17. Способ по любому из пп. 1-14, где 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят ежедневно.

18. Способ по п. 17, где 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят в виде одной дозы один раз в день.

19. Способ по п. 17, где 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят в виде двух доз ежедневно.

20. Способ по любому из пп. 1-17, где:

(a) от 150 мг до 300 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят ежедневно; или

(b) от 50 мг до 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят ежедневно.

21. Способ по п. 18, где от 150 мг до 300 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят ежедневно.

22. Способ по п. 18, где от 50 мг до 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят ежедневно.

23. Способ по п. 20, где:

(a) 150 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят два раза в день; или

(b) 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят ежедневно.

24. Способ по п. 20, где 150 мг суточного количества соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят в виде одной, двух или трех доз ежедневно.

25. Способ по п. 20, где 300 мг суточного количества соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли вводят в виде одной, двух, трех или четырех доз.

26. Способ лечения муковисцидоза, включающий ежедневное введение нуждающемуся в этом пациенту:

(a) от 5 мг до 20 мг соединения **I** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли;

(b) от 50 мг до 100 мг соединения **II** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли и

(c) (i) от 150 мг до 300 мг соединения **III** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли; или

(ii) от 50 мг до 150 мг соединения **III-d** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли.

27. Способ по п. 26, где способ включает введение:

(a) 5 мг, 10 мг или 20 мг соединения **I** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли;

(b) 100 мг соединения **II** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли и

(c) (i) 300 мг соединения **III** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли; или

(ii) 150 мг соединения **III-d** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли.

28. Способ по п. 26, где способ включает введение:

(a) 5 мг соединения **I** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли;

(b) 100 мг соединения **II** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли и

(c) 300 мг соединения **III** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли.

29. Способ по п. 26, где способ включает введение:

(a) 10 мг соединения **I** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли;

(b) 100 мг соединения **II** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли и

(c) 300 мг соединения **III** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли.

30. Способ по п. 26, где способ включает введение:

(a) 20 мг соединения **I** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли;

(b) 100 мг соединения **II** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли и

(c) 300 мг соединения **III** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемых солей.

31. Способ по п. 26, где способ включает введение:

(a) 5 мг соединения **I** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли;

(b) 100 мг соединения **II** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли и

(c) 150 мг соединения **III-d** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли.

32. Способ по п. 26, где способ включает введение:

(a) 10 мг соединения **I** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли;

(b) 100 мг соединения **II** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли и

(c) 150 мг соединения **III-d** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемых солей.

33. Способ по п. 26, где способ включает введение:

(a) 20 мг соединения **I** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли;

(b) 100 мг соединения **II** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли и

(c) 150 мг соединения **III-d** или эквивалентного количества его фармацевтически приемлемой соли.

34. Способ лечения муковисцидоза, включающий ежедневное введение нуждающемуся в этом пациенту:

(a) первой фармацевтической композиции, содержащей от 5 мг до 20 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли; и

(b) второй фармацевтической композиции ежедневно, содержащей

(i) от 50 до 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли; и

(ii) либо (1) от 150 мг до 300 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли, или (2) от 50 мг до 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

35. Способ по п. 34, где способ включает:

(a) ежедневное введение нуждающемуся в этом пациенту первой фармацевтической композиции, содержащей 5 мг, 10 мг или 20 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли; и

(b) ежедневное введение пациенту второй фармацевтической композиции, содержащей (i) 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли; и (ii) 150 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли; и

(c) ежедневное введение пациенту третьей фармацевтической композиции,

содержащей 150 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

36. Способ по п. 34, где способ включает ежедневное введение нуждающемуся в этом пациенту:

(a) первой фармацевтической композиции, содержащей 5 мг, 10 мг или 20 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли; и

(b) второй фармацевтической композиции, содержащей (i) 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли; и (ii) 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

37. Способ лечения муковисцидоза, включающий ежедневное введение нуждающемуся в этом пациенту первой фармацевтической композиции, содержащей

(a) от 5 мг до 20 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли,

(b) 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли и

(c) 150 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли; и

затем ежедневное введение пациенту второй фармацевтической композиции, содержащей 150 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

38. Способ по любому из пп. 1-37, где пациент является гетерозиготным по мутации F508del гена CFTR.

39. Способ по любому из пп. 1-37, где пациент является гомозиготным по мутации F508del гена CFTR.

40. Способ по любому из пп. 1-39, где способ включает введение фармацевтически приемлемой соли соединения **I**.

41. Способ по любому из пп. 1-40, где способ включает введение соединения **II**.

42. Способ по любому из пп. 1-3, 5-8, 11-21, 23, 25-30, 34, 35 и п. 37, где способ включает введение соединения **III**.

43. Способ по любому из пп. 1, 2, 4-8, 11-20, 22-24, 26, 27, 31-34 и п. 36, где способ включает введение соединения **III-d**.

44. Фармацевтическая композиция, содержащая от 5 мг до 20 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли, и необязательно содержащая одно или более дополнительных модулирующих CFTR средств.

45. Фармацевтическая композиция по п. 44, дополнительно содержащая:

(a) от 50 до 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли и

(b) (i) от 150 мг до 300 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли или

(ii) от 50 мг до 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его

фармацевтически приемлемой соли.

46. Фармацевтическая композиция по п. 44, дополнительно содержащая:

(a) 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли и

(b) (i) 150 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли или

(ii) 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

47. Фармацевтическая композиция по п. 44, дополнительно содержащая:

(a) 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли и

(b) 150 мг соединения **III** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

48. Фармацевтическая композиция по п. 44, дополнительно содержащая:

(a) 100 мг соединения **II** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли и

(b) 150 мг соединения **III-d** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

49. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 44-48, где композиция содержит 5 мг, 10 мг или 20 мг соединения **I** или эквивалентное количество его фармацевтически приемлемой соли.

По доверенности