

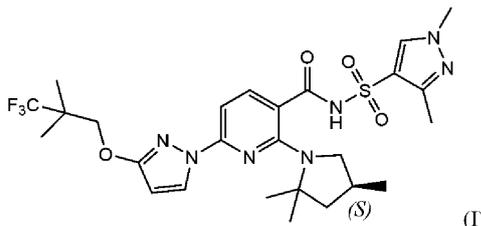
(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **041961**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2022.12.20**(21) Номер заявки  
**202090298**(22) Дата подачи заявки  
**2018.07.17**(51) Int. Cl. **A61K 31/404** (2006.01)  
**A61K 31/443** (2006.01)  
**A61K 31/4439** (2006.01)  
**A61K 31/47** (2006.01)  
**A61P 11/00** (2006.01)(54) **СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ МУКОВИСЦИДОЗА**(31) **62/533,392; 62/562,029; 62/623,748;  
62/633,024; 62/657,508**(32) **2017.07.17; 2017.09.22; 2018.01.30;  
2018.02.20; 2018.04.13**(33) **US**(43) **2020.05.14**(86) **PCT/US2018/042486**(87) **WO 2019/018395 2019.01.24**(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**ВЕРТЕКС ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ  
ИНКОРПОРЕЙТЕД (US)**(72) Изобретатель:  
**Хейзелтайн Эрик Л., Московитц  
Сэмюэл, Робертсон Сара, Уолтц  
Дэвид, Чэнь Вэйчао Джордж (US)**(74) Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**(56) **US-A1-2016095858  
WO-A1-2015160787  
WO-A1-2016160945**  
Vertex: "Two Phase 3 Studies of the Tezacaftor/Ivacaftor Combination Treatment Met Primary Endpoints with Statistically Significant Improvements in Lung Function (FEV1) in People with Cystic Fibrosis", 28 March 2017 (2017-03-28), XP055517158, Retrieved from the Internet: URL: <https://investors.vrtx.com/static-file/s/fl5217ac-4a8b-436a-9215-79144ec2e59b> [retrieved on 2018-10-19] the whole document  
**WO-A1-2017053455**Curtis J Rosebraugh: "HIGHLIGHTS OF PRESCRIBING INFORMATION These highlights do not include all the information needed to use ORKAMBI safely and effectively. See full prescribing information for ORKAMBI", 1 July 2015 (2015-07-01), XP055400867, Retrieved from the Internet: URL: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2015/206038orig1s000lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2015/206038orig1s000lbl.pdf) [retrieved on 2017-08-24] the whole documentCLAIRE E. WAINWRIGHT ET AL.: "Lumacaftor/Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis Homozygous for Phe508del CFTR" THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, -NEJM -, vol. 373, no. 3, 16 July 2015 (2015-07-16), pages 220-231, XP055382899, US, ISSN: 0028-4793, DOI: 10.1056/NEJMoa1409547, the whole document  
**WO-A1-2018107100**

(57) Соединение I формулы (I)



и/или фармацевтически приемлемая соль(и) соединения I, содержащееся в фармацевтической композиции, и способы его применения для лечения муковисцидоза.

**B1****041961****041961 B1**

Настоящая заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке США № 62/533392, поданной 17.07.2017; предварительной заявке США № 62/562029, поданной 22.09.2017; предварительной заявке США № 62/623748, поданной 30.01.2018; предварительной заявке США № 62/633024, поданной 20.02.2018; и предварительной заявке США № 62/657508, поданной 13.04.2018, полное содержание каждой из которых полностью включено в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

В данном документе раскрыт модулятор регулятора трансмембранной проводимости при муковисцидозе (CFTR), фармацевтические композиции, содержащие модулятор, способы лечения муковисцидоза и способ получения модулятора.

Муковисцидоз (CF) представляет собой рецессивное генетическое заболевание, которым страдают около 70000 детей и взрослых во всем мире. Несмотря на прогресс в лечении CF, лечения не существует.

У пациентов с CF мутации в CFTR, эндогенно экспрессируемом в респираторном эпителии, приводят к снижению секреции апикального аниона, вызывая дисбаланс в транспорте ионов и жидкости. Результирующее снижение транспорта анионов приводит к накоплению слизи в легких и сопутствующим микробным инфекциям, которые в конечном итоге приводят к смерти у пациентов с CF. В дополнение к респираторным заболеваниям пациенты с CF обычно страдают желудочно-кишечными проблемами и недостаточностью поджелудочной железы, которые, если их не лечить, приводят к смерти. Кроме того, большинство мужчин с муковисцидозом бесплодны, и фертильность у женщин с муковисцидозом снижена.

Анализ последовательности гена CFTR выявил различные мутации, вызывающие 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 выявлено более 2000 мутаций в гене CF; в настоящее время база данных CFTR2 содержит информацию только о 322 из этих идентифицированных мутаций, и достаточно данных, чтобы определить 281 мутацию как вызывающую заболевание. Наиболее распространенной вызывающей заболевание мутацией является делеция фенилаланина в положении 508 аминокислотной последовательности CFTR, и ее обычно называют мутацией F508del. Данная мутация возникает около в 70% случаев муковисцидоза и связана с тяжелым заболеванием.

Делеция остатка 508 в CFTR препятствует правильному фолдингу белка. Это приводит к неспособности мутантного белка выходить из эндоплазматического ретикулума (ER) и перемещаться к плазматической мембране. В результате число каналов CFTR для транспорта анионов, присутствующих в мембране, намного меньше, чем наблюдается в клетках, экспрессирующих CFTR дикого типа, то есть CFTR, не имеющих мутаций. В дополнение к нарушению переноса, мутация приводит к дефективному рейтингу каналов. Уменьшенное количество каналов в мембране и дефектный рейтинг, вместе взятые приводят к уменьшению транспорта аниона и жидкости через эпителий (Quinton, P. M. (1990), *FASEB J.* 4: 2709-2727). Дефектные каналы из-за мутации F508del по-прежнему функционируют, хотя они являются и менее функциональными, чем каналы CFTR дикого типа. (Dalemans et al. (1991), *Nature bond.* 354: 526-528; Pasyk and Foskett (1995), *J. Cell. Biochem.* 270: 12347-50). В дополнение к F508del, другие мутации в CFTR вызывающие заболевания, которые приводят к дефектному переносу, синтезу и/или гейтингу каналов, могут быть усилены или подавлены для изменения секреции анионов и изменения прогрессирования и/или тяжести заболевания.

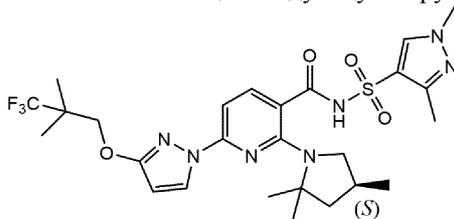
CFTR представляет собой цАМФ/АТФ-опосредованный анионный канал, который экспрессируется в различных типах клеток, в том числе в клетках абсорбционного и секреторного эпителия, где он регулирует поток анионов через мембрану, а также активность других ионных каналов и белков. В эпителиальных клетках нормальное функционирование CFTR имеет решающее значение для поддержания транспорта электролита по всему организму, включая дыхательные и пищеварительные ткани. CFTR состоит из около 1480 аминокислот, которые кодируют белок, который состоит из tandemного повтора трансмембранных доменов, каждый из которых содержит шесть трансмембранных спиралей и нуклеотидсвязывающий домен. Два трансмембранных домена связаны между собой большим, полярным, регуляторным (R)-доменом с множественными сайтами фосфорилирования, которые регулируют активность каналов и клеточный перенос.

Транспорт хлоридов происходит посредством скоординированной активности ENaC и CFTR, присутствующих на апикальной мембране и Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФазный насоса и Cl<sup>-</sup> каналов, экспрессируемых на базолатеральной поверхности клетки. Вторичный активный транспорт хлорида со стороны просвета приводит к накоплению внутриклеточного хлорида, который затем может пассивно покинуть клетку через Cl<sup>-</sup> каналы, что приводит к векторному транспорту. Расположение Na<sup>+</sup>/2Cl<sup>-</sup>/K<sup>+</sup> котранспортера, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФазного насоса и K<sup>+</sup> каналов базолатеральной мембраны на базолатеральной поверхности и CFTR на просветной стороне координируют секрецию хлорида через CFTR на просветной стороне. Поскольку вода, вероятно, никогда активно не транспортируется сама, ее поток через эпителий зависит от крошечных трансэпителиальных осмотических градиентов, генерируемых объемным потоком натрия и хлорида.

Соответственно, существует необходимость в новых способах лечения заболеваний, опосредованных CFTR.

В данном документе раскрыто соединение I и его фармацевтически приемлемые соли.

Соединение I может быть описано как имеющее следующую структуру:



Химическое название для соединения I является N-(1,3-диметилпиразол-4-ил)сульфонил-6-[3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропокси)пиразол-1-ил]-2-[(4S)-2,2,4-триметилпирролидин-1-ил]пиридин-3-карбоксамид.

В данном документе также раскрыты фармацевтические композиции, содержащие соединение I и/или по меньшей мере одну его фармацевтически приемлемую соль, причем данные композиции могут дополнительно включать по меньшей мере один дополнительный активный фармацевтический ингредиент и/или по меньшей мере один носитель. Также раскрыты способы лечения CFTR-опосредованного заболевания муковисцидоза, включающие введение соединения I и/или по меньшей мере одной его фармацевтически приемлемой соли, необязательно, в виде части фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере один дополнительный компонент, субъекту, нуждающемуся в этом. Также раскрыт способ получения соединения I и/или его фармацевтически приемлемых солей.

#### Краткое описание графических материалов

Фиг. 1 представляет собой XRPD формы A соединения I.

Фиг. 2 представляет собой экспериментальную XRPD формы A соединения I (вверху) по сравнению с рассчитанной XRD (внизу), которая рассчитывается по данным полученным из монокристалла.

Фиг. 3 представляет собой наложение экспериментальной и рассчитанной XRPD формы A соединения I из фиг. 2.

Фиг. 4 представляет собой XRPD высушенной распылением дисперсии соединения I с HPMCAS-HG.

Фиг. 5 представляет собой спектр MDSC SDD 50% соединения I с HPMCAS-HG.

Фиг. 6 представляет собой репрезентативный список генетических мутаций CFTR.

Фиг. 7 представляет собой твердотельный спектр  $^{13}\text{C}$  ЯМР формы A соединения I, с вращением MAS при 12,5 кГц, с применением адамантана в качестве стандарта, 29,5 м.ч., при 275 К. Спектр снимали на WN SSNMR Bruker 400 МГц; BH085908; V019431 (консоль), V015741 (магнит).

Фиг. 8 представляет собой твердотельный спектр  $^{19}\text{F}$  ЯМР формы A соединения I, с вращением MAS при 12,5 кГц, с применением адамантана в качестве стандарта, 29,5 м.ч., при 275 К. Спектр снимали на WN SSNMR Bruker 400 МГц; BH085908; V019431 (консоль), V015741 (магнит).

#### Определения

Используемый в данном документе термин "CFTR" означает трансмембранный регулятор проводимости при муковисцидозе.

Используемый в данном документе термин "мутации" может относиться к мутациям в гене CFTR или белке CFTR. Используемый в данном документе термин "мутация гена CFTR" относится к мутации в гене CFTR, а "мутация белка CFTR" относится к мутации в белке CFTR. Генетический дефект или мутация, или изменение нуклеотидов в гене в целом приводит к мутации в белке CFTR, транслированной из этого гена, или сдвигу(ам) рамки.

Используемый в данном документе термин "F508del" относится к мутантному белку CFTR, в котором отсутствует аминокислота фенилаланин в положении 508.

Используемый в данном документе термин "гомозиготный" для конкретной мутации гена имеет одинаковую мутацию на каждом аллеле.

В настоящем описании пациент, который является "гетерозиготным" по конкретной мутации гена, имеет эту мутацию в одном аллеле и другую мутацию в другом аллеле.

Используемый в данном документе термин "модулятор" относится к соединению, которое увеличивает активность биологического соединения, такого как белок. Например, модулятор CFTR представляет собой соединение, которое увеличивает активность CFTR. Увеличение активности в результате модуляции CFTR включает, но не ограничивается ими, соединения, которые корректируют, потенцируют, стабилизируют и/или усиливают активность CFTR.

Используемый в данном документе термин "корректор CFTR" относится к соединению, которое облегчает обработку и перенос CFTR для увеличения количества CFTR на поверхности клетки. Раскрытые в данном документе соединения I и II являются корректорами CFTR.

Используемый в данном документе термин "потенциатор CFTR" относится к соединению, которое увеличивает каналную активность белка CFTR, расположенного на поверхности клетки, что приводит к усиленному транспорту ионов. Соединения III и III-d, раскрытые в данном документе, являются потенциаторами CFTR.

Используемый в данном документе термин "активный фармацевтический ингредиент" или "тера-

пептический агент" ("АФИ") относится к биологически активному соединению.

Используемый в данном документе термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к солевой форме соединения данного изобретения, причем соль является нетоксичной. Фармацевтически приемлемые соли соединений данного документа включают соли, полученные из подходящих неорганических и органических кислот и оснований. Фармацевтически приемлемые соли хорошо известны в данной области техники. Например, S. M. Berge, et al. подробно описывают фармацевтически приемлемые соли в J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19.

Используемый в данном документе термин "аморфный" относится к твердому материалу, не имеющему дальнего порядка в положении его молекул. Аморфные твердые вещества, как правило, представляют собой переохлажденные жидкости, в которых молекулы расположены случайным образом, так что нет четко определенного расположения, например, молекулярной упаковки, и отсутствует дальний порядок. Аморфные твердые вещества обычно являются изотропными, то есть проявляют сходные свойства во всех направлениях и не имеют определенных температур плавления. Например, аморфный материал представляет собой твердый материал, не имеющий четкого характеристического кристаллического пика(ов) на рентгенограмме (то есть дифракции рентгеновских лучей (XRPD) (т.е. не является кристаллическим, как определено с помощью XRPD). Вместо этого, один или более широких пиков (например, гало) появляются в его XRPD-паттерне. Широкие пики характерны для аморфного твердого вещества. См. US 2004/0006237 для сравнения XRPD аморфного материала и кристаллического материала. В некоторых вариантах реализации, твердый материал может содержать аморфное соединение, и материал может, например, характеризоваться отсутствием острого характеристического кристаллического пика(ов) в его спектре XRPD (т.е. материал не является кристаллическим, но является аморфным, как определено XRPD). Вместо этого, один или более широких пиков (например, гало) могут появиться на рентгенограмме материала. См. US 2004/0006237 для сравнения XRPD аморфного материала и кристаллического материала. Твердый материал, содержащий аморфное соединение, может характеризоваться, например, более широким температурным диапазоном для плавления твердого материала по сравнению с диапазоном для плавления чистого кристаллического твердого вещества. Другие методы, такие как, например, рамановская спектроскопия, инфракрасная спектроскопия и твердотельный ЯМР, могут использоваться для характеристики кристаллических или аморфных форм.

В некоторых вариантах реализации, твердый материал может содержать смесь кристаллических твердых веществ и аморфных твердых веществ. Твердый материал, приготовленный для включения аморфного соединения, может также, например, содержать до 30% кристаллического твердого вещества. В некоторых вариантах реализации, твердый материал, приготовленный для включения аморфного соединения, также может, например, содержать до 25%, 20%, 15%, 10%, 5% или 2% кристаллического твердого вещества. В вариантах реализации, в которых твердый материал содержит смесь кристаллических твердых веществ и аморфных твердых веществ, характеристические данные, такие как XRPD, могут содержать показатели как кристаллических, так и аморфных твердых веществ. Используемый в данном документе термин "по существу аморфный" относится к твердому материалу, имеющему небольшой или нулевой дальний порядок в положении его молекул. Например, по существу аморфные материалы имеют кристалличность менее 15% (например, кристалличность менее 10% или кристалличность менее 5%). Также отмечено, что термин "по существу аморфный" включает дескриптор "аморфный", который относится к материалам, не имеющим (0%) кристалличности.

Используемый в данном документе термин "дисперсия" относится к дисперсной системе, в которой одно вещество, дисперсная фаза, распределено в дискретных единицах по всему второму веществу (непрерывная фаза или носитель). Размер дисперсной фазы может значительно варьироваться (например, коллоидные частицы размером от нанометра до нескольких микрон). Как правило, дисперсные фазы могут быть твердыми веществами, жидкостями или газами. В случае твердой дисперсии как дисперсная, так и непрерывная фазы являются твердыми. 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 реализации, твердая дисперсия включает полимер, составляющий дисперсную фазу, и лекарственное средство составляет непрерывную фазу. Или твердая дисперсия включает лекарственное средство, составляющее дисперсную фазу, и полимер, составляющий непрерывную фазу.

Используемые в данном документе термины "пациент" и "субъект" используются взаимозаменяемо и относятся к животному, включая людей.

Используемые в данном документе термины "эффективная доза" и "эффективное количество" используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к тому количеству соединения, которое вызывает желаемый эффект, для которого оно вводится (например, улучшение при CF, или симптома CF, или уменьшение тяжести CF, или симптома CF). Точное количество эффективной дозы будет зависеть от цели лечения, и будет устанавливаемыми специалистом в данной области техники с использованием известных способов (см., например, Lloyd (1999) The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding).

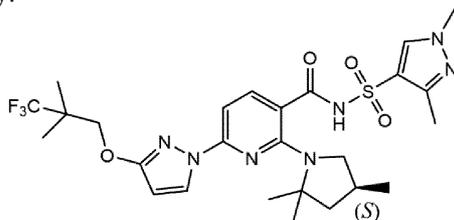
Специалист в данной области техники должен понимать, что, когда раскрыто количество "соединения или его фармацевтически приемлемой соли", количество фармацевтически приемлемой солевой формы соединения представляет собой количество, эквивалентное количеству свободного основания соединения. Отмечено, что раскрытые количества соединений или их фармацевтически приемлемых солей в данном документе основаны на количестве их свободного основания. Например, "100 мг соединения I или его фармацевтически приемлемой соли" включает 100 мг соединения I и концентрацию фармацевтически приемлемой соли соединения I, эквивалентную 100 мг соединения I.

Используемый в данном документе термин "лечение" и тому подобное обычно означает улучшение СФ или его симптомов, или уменьшение тяжести СФ или его симптомов у субъекта. Используемый в данном документе термин "лечение", включает, но не ограничивается следующим: усиление роста субъекта, увеличение прироста веса, уменьшение количества слизи в легких, улучшение функции поджелудочной железы и/или печени, уменьшение инфекций грудной клетки и/или уменьшение кашля или одышки. Улучшения или уменьшение тяжести любого из этих симптомов могут быть легко оценены в соответствии со стандартными способами и методиками, известными в данной области техники.

Используемый в данном документе термин "в сочетании с", когда он относится к двум или более соединениям, агентам или дополнительным активным фармацевтическим ингредиентам, означает введение пациенту двух или более соединений, агентов или активных фармацевтических ингредиентов до, одновременного с или после друг друга.

Используемый в данном документе термин "около", когда используется в связи с дозами, количествами или массовым процентом ингредиентов композиции или лекарственной формы, включает значение определенной дозы, количества или массового процента или диапазон дозы, количества, или массового процента, которые признаны специалистом в данной области техники достаточными для обеспечения фармакологического эффекта, эквивалентного таковому, полученному из указанной дозы, количества или массового процента.

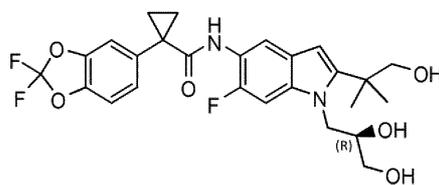
Как указано выше, в данном документе раскрыто соединение I, которое может быть изображено как имеющее следующую структуру:



Химическое название для соединения I является N-(1,3-диметилпиразол-4-ил)сульфонил-6-[3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропокси)пиразол-1-ил]-2-[(4S)-2,2,4-триметилпирролидин-1-ил]пиридин-3-карбоксамид. Соединение I может быть в форме его фармацевтически приемлемой соли.

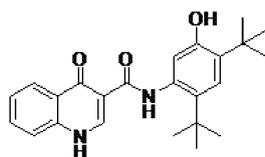
В некоторых вариантах реализации, соединение I (и/или по меньшей мере одну его фармацевтически приемлемую соль) можно вводить в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным активным фармацевтическим ингредиентом. В некоторых вариантах реализации, по меньшей мере один дополнительный активный фармацевтический ингредиент выбран из следующего:

соединения II

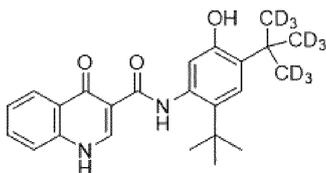


и его фармацевтически приемлемых солей; химическим названием для соединения II является (R)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-N-(1-(2,3-дигидроксипропил)-6-фтор-2-(1-гидрокси-2-метилпропан-2-ил)-1H-индол-5-ил)циклопропанкарбоксамид;

соединения III или соединения III-d

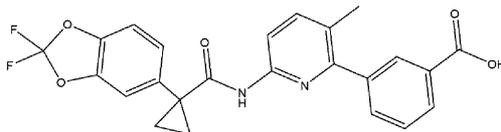


(соединение III) или



(соединение III-d)

и его фармацевтически приемлемых солей; химическим названием для соединения III является N-(5-гидрокси-2,4-ди-tert-бутилфенил)-4-оксо-1H-хинолин-3-карбоксамид, и химическим названием для соединения III-d является 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; и соединения IV



и его фармацевтически приемлемых солей; химическим названием для соединения IV является 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)циклопропанкарбоксамидо)-3-метилпиридин-2-ил)бензойная кислота.

Подходящими фармацевтически приемлемыми солями являются, например, соли, раскрытые в S. M. Berge, et al. J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19. Например, в табл. 1 этой статьи представлены следующие фармацевтически приемлемые соли:

Таблица 1

Ацетат	Йодид	Бензатин
Бензолсульфонат	Изетионат	Хлорпрокаин
Бензоат	Лактат	Холин
Бикарбонат	Лактобионат	Диэтаноламин
Битартрат	Малат	Этилендиамин
Бромид	Малеат	Меглумин
Кальций эдетат	Манделат	Прокаин
Камсилат	Мезилат	Алюминий
Карбонат	Метилбромид	Кальций
Хлорид	Метилнитрат	Литий
Цитрат	Метилсульфат	Магний
Дигидрохлорид	Мукат	Калий
Эдетат	Напсилат	Натрий
Эдисилат	Нитрат	Цинк
Эстолат	Памоат (Эмбонат)	
Эсилат	Пантотенат	
Фумарат	Фосфат/дифосфат	
Глюцептат	Полигалактуронат	
Глюконат	Салицилат	
Глутамат	Стеарат	
Гликоллиларсанилат	Субацетат	
Гексилрезорцинат	Сукцинат	
Гидрабамин	Сульфат	
Гидробромид	Таннат	
Гидрохлорид	Тартрат	
Гидроксинафтоат	Теосиат	
	Триэтиодид	

Неограничивающие примеры фармацевтически приемлемых кислотно-аддитивных солей включают соли, образованные с неорганическими кислотами, такими как хлористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, фосфорная кислота, серная кислота или хлорная 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 использованием других способов, используемых в данной области техники, таких как ионный обмен. Неограничивающие примеры фармацевтически приемлемых солей включают адипат, альгинат, аскорбат, аспарат, бензолсульфонат, бензоат, бисульфат, борат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, цитрат, циклопентанпропионат, диглюконат, додецилсульфат, этансульфонат, формиат, fumarat, глюкогептонат, глицерофосфат, глюконат, гемисульфат, гепаноат, гексаноат, гидройодид, 2-гидроксиэтансульфонат, лактобионат, лактат, лаурат, лаурилсульфат, малат, малеат, малонат, метансульфонат, 2-нафталинсульфонат, никотинат, нитрат, олеат, оксалат, пальмитат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионата, фосфат, пикрат, пивалат, пропионат, стеарат, сукцинат, сульфат, тартрат, тиоцианат, *p*-толуолсульфонат, ундеканат и валерат. Фармацевтически приемлемые соли, полученные из соответствующих оснований, включают соли щелочных металлов, щелочноземельных металлов, аммония и  $N^+(C_{1-4}alkyl)_4$ . Данное описание также предусматривает кватернизацию любых основных азотсодержащих 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 использованием противоионов, таких как галогенид, гидроксид, карбоксилат, сульфат, фосфат, нитрат, низший алкилсульфонат и арилсульфонат. Другие подходящие неограничивающие примеры фармацевтически приемлемых солей включают безилат и соли глюкозамина.

В некоторых вариантах реализации, 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 реализации, 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 реализации, 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 IV, и его фармацевтически приемлемых солей. В некоторых вариантах реализации, 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 реализации, 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, и по меньшей мере одним соединением, выбранным из соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей. В некоторых вариантах реализации, 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 реализации, 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 IV, и его фармацевтически приемлемых солей. В некоторых вариантах реализации, 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-d и его фармацевтически приемлемых солей. В некоторых вариантах реализации, 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, и по меньшей мере одним соединением, выбранным из соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей.

Каждое из соединений I, II, III, III-d и IV и их фармацевтически приемлемые соли независимо можно вводить один раз в сутки, два раза в сутки или три раза в сутки. Используемый в данном документе термин "ежедневно" означает "каждый день". Например, 100 мг соединения I вводят ежедневно, то есть всего вводят 100 мг соединения I в день, которое можно вводить, например, один раз в сутки, два раза в сутки или три раза в сутки. Например, 100 мг соединения I вводят один раз в сутки (qd), что означает, что 100 мг соединения I на дозу вводят один раз в сутки. Например, 50 мг соединения I вводят два раза в сутки (bid) означает, что 50 мг соединения I на дозировку вводят два раза в сутки. В некоторых вариантах реализации, по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, вводят раз в день. В некоторых вариантах реализации, по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, вводят два раза в сутки. В некоторых вариантах реализации, соединение II или его фармацевтически приемлемые соли вводят один раз в сутки. В некоторых вариантах реализации, соединение II или его фармацевтически приемлемые





ская композиция содержит соединение I и, по меньшей мере два дополнительных активных фармацевтических ингредиента, один из которых является корректором CFTR, а другой - потенциатором CFTR.

В некоторых вариантах реализации, по меньшей мере один дополнительный активный фармацевтический ингредиент выбран из муколитических агентов, бронходилататоров, антибиотиков, противоинфекционных агентов и противовоспалительных агентов.

Фармацевтическая композиция может дополнительно содержать, по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах реализации, по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель выбран из фармацевтически приемлемых носителей и фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ. В некоторых вариантах реализации, по меньшей мере один фармацевтически приемлемый ингредиент выбран из фармацевтически приемлемых наполнителей, дезинтегрантов, поверхностно-активных веществ, связующих веществ, смазывающих веществ.

Также следует понимать, что фармацевтическая композиция по данному изобретению, включая фармацевтическую композицию, содержащую комбинации, описанные ранее, может использоваться в комбинированной терапии; то есть композиции можно вводить одновременно, до или после, по меньшей мере, одного дополнительного активного фармацевтического ингредиента или медицинских процедур.

Фармацевтические композиции, содержащие указанные комбинации, полезны для лечения муковисцидоза.

В некоторых вариантах реализации, фармацевтическая композиция, раскрытая в данном документе, содержит, по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, и, по меньшей мере, один фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах реализации, фармацевтически приемлемый носитель представляет собой полимер. В некоторых вариантах реализации, фармацевтически приемлемый носитель представляет собой HPMCAS. В некоторых вариантах реализации, фармацевтически приемлемый носитель представляет собой HPMCAS-HG. В некоторых вариантах реализации, фармацевтическая композиция содержит твердую дисперсию соединения I в HPMCAS-HG. В некоторых вариантах реализации, твердая дисперсия содержит соединение I в HPMCAS-HG в массовом соотношении 1: 1. В некоторых вариантах реализации, твердая дисперсия включает по существу аморфное соединение I.

Как описано выше, фармацевтические композиции, раскрытые в данном документе, могут дополнительно содержать, по меньшей мере, один фармацевтически приемлемый носитель. По меньшей мере, один фармацевтически приемлемый носитель может быть выбран из вспомогательных веществ и носителей. По меньшей мере, один фармацевтически приемлемый носитель, используемый в данном документе, включает любые и все растворители, разбавители, другие жидкие носители, дисперсионные добавки, суспензионные добавки, поверхностно-активные агенты, изотонические агенты, загустители, эмульгирующие агенты, консерванты, твердые связующие и смазывающие вещества в соответствии с желаемой конкретной лекарственной формой. Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st edition, 2005, ed. D.B. Troy, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, and Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, eds. J. Swarbrick and J. C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, New York раскрывают различные носители, используемые при составлении фармацевтических композиций, и известные способы их получения. За исключением случаев, когда какой-либо обычный носитель несовместим с соединениями данного описания, а именно приводит к каким-либо нежелательным биологическим эффектам или иным вредным взаимодействиям с любым другим компонентом (компонентами) фармацевтической композиции, его использование предполагается в пределах объема данного раскрытия. Неограничивающие примеры подходящих фармацевтически приемлемых носителей включают, но не ограничиваются ими, ионообменные материалы, глинозем, стеарат алюминия, лецитин, сывороточные белки (такие как человеческий сывороточный альбумин), буферные вещества (такие как фосфаты, глицин, сорбиновую кислоту и сорбат калия), частичные глицеридные смеси насыщенных растительных жирных кислот, воду, соли и электролиты (такие как протаминсульфат, динатрийгидрофосфат, гидрофосфат калия, хлорид натрия и соли цинка), коллоидный диоксид кремния, трисиликат магния, поливинилпирролидон, полиакрилаты, воски, полиэтилен-полиоксипропилен-блочные полимеры, шерстяной жир, сахара (такие как лактоза, глюкоза и сахароза), крахмалы (такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал), целлюлоза и ее производные (такие как натрий-карбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы), порошкообразный трагакант, солод, желатин, тальк, вспомогательные вещества (такие как масло какао и воски для суппозиторий), масла (такие как арахисовое масло, хлопковое масло, подсолнечное 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 агенты (такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия), альгиновую кислоту, апирогенную воду, изотонический солевой раствор, раствор Рингера, этиловый спирт, фосфатные буферные растворы, нетоксичные совместимые смазывающие вещества (такие как лаурилсульфат натрия и стеарат магния), красящие агенты, высвобождающие агенты, агенты для покрытий, подслащивающие агенты, ароматизаторы, отдушки, консерванты и антиоксиданты.

Также следует понимать, что фармацевтическая композиция по данному изобретению, включая фармацевтическую композицию, содержащую любые комбинации, описанные ранее, может использо-

ваться в комбинированной терапии; то есть композиции можно вводить одновременно, до или после, по меньшей мере, одного активного фармацевтического ингредиента или медицинских процедур.

В некоторых вариантах реализации, способы по настоящему изобретению включают введение пациенту, нуждающемуся в этом, 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, соединения III-d, соединения IV и их фармацевтически приемлемые соли.

Любые подходящие фармацевтические композиции, известные в данной области техники, могут быть использованы для соединения I, соединения II, соединения III, соединения III-d, соединения IV и их фармацевтически приемлемых солей. Некоторые типичные фармацевтические композиции для соединения I и его фармацевтически приемлемых солей описаны в примерах. Некоторые типичные фармацевтические композиции для соединения II и его фармацевтически приемлемых солей можно найти в WO 2011/119984 и WO 2014/015841, которые включены в настоящий документ в полном объеме посредством ссылки. Некоторые типичные 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, которые включены в настоящий документ в полном объеме посредством ссылки. Некоторые типичные фармацевтические композиции для соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей можно найти в патентах США 8865902, США 9181192 и США 9512079, которые включены в настоящий документ в полном объеме посредством ссылки. Некоторые типичные фармацевтические композиции для соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей можно найти в WO 2010/037066, WO 2011/127241, WO 2013/112804 и WO 2014/071122, которые включены в настоящий документ в полном объеме посредством ссылки.

В некоторых вариантах реализации, 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. Фармацевтические композиции, содержащие соединение II и соединение III, раскрыты в публикации PCT № WO 2015/160787, которая включена в настоящий документ в полном объеме посредством ссылки. Примерный вариант осуществления представлен в следующей таблице.

Таблица 2

Примерная таблетка, содержащая 100 мг соединения II и 150 мг соединения III

	<b>Ингредиент</b>	<b>Количество на таблетку (мг)</b>
Внутригланулярная	Соединение II SDD (высушенное распылением дисперсии) (80% масс. Соединения II, 20% масс. НРМС)	125
	Соединение III SDD (80% масс. Соединения III, 19,5% масс. НРМСAS-HG; 0,5% масс. лаурилсульфата натрия)	187,5
	Микрокристаллическая целлюлоза	131,4
	Кроскармеллоза натрия	29,6
	<b>Всего</b>	<b>473,5</b>
Экстрагланулярная	Микрокристаллическая целлюлоза	112,5
	Стеарат магния	5,9
	<b>Всего</b>	<b>118,4</b>
<b>Всего таблетки без покрытия</b>		<b>591,9</b>
Пленка покрытия	Опадрай	17,7
<b>Всего таблетки с покрытием</b>		<b>609,6</b>

В некоторых вариантах реализации, фармацевтическую композицию, содержащую соединение I, вводят с фармацевтической композицией, содержащей соединение III. Фармацевтические композиции, содержащие соединение III, раскрыты в публикации РСТ № WO 2010/019239, которая включена в настоящий документ в полном объеме посредством ссылки. Примерный вариант осуществления представлен в следующей таблице.

Таблица 3

## Ингредиенты для типичной таблетки с соединением III

Состав таблеток	Процентное содержание % масс./масс.	Доза (мг)	Серия (г)
Соединение III SDD (80% масс. Соединения III, 19,5% масс. НРМСАС-НГ; 0,5% масс. лаурилсульфата натрия)	34,09%	187,5	23,86
Микрокристаллическая целлюлоза	30,51%	167,8	21,36
Лактоза	30,40%	167,2	21,28
Кроскармеллоза 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>

Дополнительные фармацевтические композиции, содержащие соединение III, раскрыты в публикации РСТ № WO 2013/130669, которая включена в настоящий документ в полном объеме посредством ссылки. Типичные мини-таблетки (диаметр ~2 мм, толщина ~2 мм, каждая мини-таблетка имеет массу около 6,9 мг) были составлены так, чтобы иметь около 50 мг соединения III на 26 мини-таблеток и около 75 мг соединения III на 39 мини-таблеток с использованием количеств ингредиентов, указанных в табл. 4 ниже.

Таблица 4

## Ингредиенты для мини-таблеток с 50 мг и 75 мг дозой

Состав таблеток	Процентное содержание % масс./масс.	Доза (мг)		Серия (г)
		50 мг доза	75 мг доза	
Соединение III SDD (80% масс. Соединения III, 19,5% масс. НРМСАС-НГ; 0,5% масс. лаурилсульфата натрия)	35	62,5	93,8	1753,4
Маннитол	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
Кроскармеллоза 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>

В некоторых вариантах реализации, фармацевтическую композицию, содержащую соединение I, вводят с фармацевтической композицией, содержащей соединение III-d.

В некоторых вариантах реализации, фармацевтические композиции представляют собой таблетки. В некоторых вариантах реализации, таблетки подходят для перорального введения.

Данные комбинации полезны при лечении муковисцидоза.

Мутация CFTR может влиять на количество CFTR, то есть на количество каналов CFTR на поверхности клетки, или она может влиять на функцию CFTR, то есть на функциональную способность каждого канала открываться и транспортировать ионы. Мутации, влияющие на количество CFTR, включают мутации, которые вызывают дефектный синтез (дефект класса I), мутации, которые вызывают дефект-

ную обработку и перенос (дефект класса II), мутации, которые вызывают пониженный синтез CFTR (дефект класса V), и мутации, которые снижают стабильность поверхностного CFTR (дефект класса VI). Мутации, которые влияют на функцию CFTR, включают мутации, которые вызывают дефекты гейтинга (дефект класса III) и мутации, которые вызывают дефект проводимости (дефект класса IV).

В некоторых вариантах реализации, в данном документе раскрыты способы лечения, уменьшения тяжести или симптоматического лечения муковисцидоза у пациента, включающие введение эффективно-го количества соединения, его фармацевтически приемлемой соли или дейтерированного аналога любого из вышеуказанного; или фармацевтической композиции, описанной в данном документе пациенту, такому как человек, причем указанный пациент имеет муковисцидоз. В некоторых вариантах реализации, пациент имеет генотипы F508del/минимальная функция (MF), генотипы F508del/F508del, генотипы F508del/гейтинг или генотипы F508del/остаточная функция (RF).

Используемый в данном документе термин "мутации с минимальной функцией (MF)" относится к мутациям гена CFTR, связанным с минимальной функцией CFTR (функционирующий белок CFTR с от минимальной-до-отсутствия функцией), и включает, например, мутации, связанные с серьезными дефектами в способности канала CFTR открываться и закрываться, известные как дефекты рейтинга каналов или "мутации рейтинга"; мутации, связанные с серьезными дефектами клеточной обработки CFTR и его доставки на клеточную поверхность; мутации, связанные с отсутствием (или минимальным синтезом) синтеза CFTR; и мутации, связанные с серьезными дефектами проводимости канала. Таблица C ниже включает неисключающий список минимальных функциональных мутаций CFTR, которые выявляются с помощью анализа генотипирования, утвержденного FDA. В некоторых вариантах реализации, мутация считается мутацией MF, если она удовлетворяет, по меньшей мере одному из следующих 2 критериев:

(1) биологическая достоверность отсутствия транслированного белка (генетическая последовательность предсказывает полное отсутствие белка CFTR), или

(2) тестирование *in vitro*, которое подтверждает недостаточную чувствительность к соединению II, соединению III или комбинации соединения II и соединения III, а также доказательство клинической тяжести на популяционной основе (как сообщается в больших реестрах пациентов).

В некоторых вариантах реализации, мутации минимальной функции представляют собой мутации, которые приводят к практически не функционирующему белку CFTR и не реагируют *in vitro* на соединение II, соединение III или комбинацию соединения II и соединения III.

В некоторых вариантах реализации, мутации с минимальной функцией представляют собой мутации, которые не реагируют *in vitro* на соединение II, соединение III или комбинацию соединения II и соединения III. В некоторых вариантах реализации, мутации с минимальной функцией представляют собой мутации, основанные на тестировании *in vitro*, отвечающие следующим критериям в экспериментах *in vitro*:

базовый транспорт хлоридов, составляющий <10% от CFTR дикого типа, и увеличение транспорта хлоридов на <10% по сравнению с исходным уровнем после добавления TEZ, IVA или TEZ/IVA в анализ.

В некоторых вариантах реализации, пациенты с по меньшей мере одной мутацией с минимальной функцией проявляют признаки клинической тяжести, определяемые как

средний уровень хлорида в поте >86 ммоль/л,

распространенность недостаточности поджелудочной железы (PI)>50%.

Пациенты с генотипом F508del/минимальная функция определяются как пациенты с гетерозиготным F508del-CFTR со вторым аллелем CFTR, содержащим мутацию с минимальной функцией. В некоторых вариантах реализации, пациенты с генотипом F508del/минимальная функция являются пациентами, которые являются гетерозиготными по F508del-CFTR со вторым аллелем CFTR, содержащим мутацию, которая приводит к белку CFTR с минимальной функцией CFTR (функционирующий белок CFTR с от минимальной-до-отсутствия функцией) и *in vitro* не реагирует на соединение II, соединение III или комбинацию соединения II и соединения III.

В некоторых вариантах реализации, минимальные функциональные мутации могут быть определены с использованием 3 основных источников:

биологическая вероятность ответа мутации (то есть класса мутации)

доказательство клинической тяжести на популяционной основе (по регистру пациентов CFTR2; доступ был получен 15 февраля 2016 г.)

средний уровень хлорида в поте > 86 ммоль/л, и

распространенность недостаточности поджелудочной железы (PI)>50%.

Тестирование *in vitro*

мутации, приводящие к исходному транспорту хлорида <10% CFTR дикого типа, считались минимальной функцией

мутации, приводящие к транспорту хлоридов <10% CFTR дикого типа после добавления соединения II и/или соединения III, считались не отвечающими.

Используемый в данном документе термин "мутации с остаточной функцией" относится к мутациям класса II-V, которые имеют некоторый остаточный транспорт хлорида и приводят к менее тяжелому клиническому фенотипу. Мутации с остаточной функцией представляют собой мутацию в гене CFTR,

которая приводит к уменьшению количества белка или его функции на поверхности клетки, которая может вызывать частичную активность CFTR.

Неограничивающие примеры мутаций гена CFTR, о которых известно, что они приводят к фенотипу с остаточной функцией, включают мутацию остаточной функции CFTR, выбранную из 2789+5GD→A, 3849+1 OkbC→T, 3272-26A→G, 711+3A→G, E56K, P67L, R74W, D110E, D1 ION, R117C, L206W, R347H, R352Q, A455E, D579G, E831X, S945L, S977F, F1052V, R1070W, F1074L, D1 152H, D1270N, E193K и K1060T. Например, мутации CFTR, которые вызывают дефектный сплайсинг мРНК, такой как 2789+507A, приводят к снижению синтеза белка, но доставляют некоторое количество функционального CFTR на поверхность клетки для обеспечения остаточной функции. Другие мутации CFTR, которые снижают проводимость и/или гейтинг, такие как R1 17H, приводят к нормальному количеству каналов CFTR на поверхности клетки, но их функциональный уровень низок, что приводит к остаточной функции. В некоторых вариантах реализации, мутация с остаточной функцией CFTR выбрана из R117H, S1235R, P027T, R668C, G576A, M470V, L997F, R75Q, R1070Q, R31C, D614G, G1069R, R1162L, E56K, A1067T, E193K и K1060T. В некоторых вариантах реализации, мутация с остаточной функцией CFTR выбрана из R117H, S1235R, R117H, S1235R, P027T, R668C, G576A, M470V, L997F, R75Q, R1070Q, R31C, D614G, G1069R, R1162L, E56K и A1067T.

Остаточную функцию CFTR можно охарактеризовать на клеточном уровне (*in vitro*) с использованием клеточных анализов, таких как анализ FRT (Van Goar, F. et al. (2009) PNAS Vol. 106, No. 44, 18825-18830; и Van Goor, F. et al. (2011) PNAS Vol. 108, No. 46, 18843-18846), чтобы измерить количество транспорта хлорида через мутированные каналы CFTR. Мутации с остаточной функцией приводят к снижению, но не к полному устранению CFTR-зависимого транспорта ионов. В некоторых вариантах реализации, мутации с остаточной функцией приводят к снижению активности CFTR по меньшей мере на около 10% в анализе FRT. В некоторых вариантах реализации, мутации с остаточной функцией приводят к снижению активности CFTR до около 90% в анализе FRT.

Пациенты с генотипом F508del/остаточная функция определяются как пациенты с гетерозиготным F508del-CFTR со вторым аллелем CFTR, который содержит мутацию, которая приводит к уменьшению количества или функции белка на поверхности клетки, что может приводить к частичной активности CFTR.

Пациенты с генотипом F508del/гейтинг мутация определяются как пациенты, которые являются гетерозиготными по F508del-CFTR со вторым аллелем CFTR, который содержит мутацию, связанную с дефектом гейтинга, и клинически продемонстрировано, что они реагируют на соединение III. Примеры таких мутаций включают: G178R, S549N, S549R, G551D, G551S, G1244E, S1251N, S1255P и G1349D.

В некоторых вариантах реализации, способы лечения, уменьшения тяжести или симптоматического лечения муковисцидоза, раскрытые в данном документе, каждый независимо друг от друга приводят к увеличению транспорта хлорида выше базового транспорта хлорида пациента.

В некоторых вариантах реализации, в способах лечения, уменьшения тяжести или симптоматического лечения муковисцидоза, раскрытых в данном документе, пациент является гетерозиготным по F508del, и другая генетическая мутация CFTR является любой вызывающей CF мутацию. В некоторых вариантах реализации, изобретения пациент является гетерозиготным по F508del, и другая генетическая мутация CFTR представляет собой любую CF-вызывающую мутацию, и ожидается, что она будет реагировать и/или реагирует на любое из раскрытых в данном документе новых соединений, таких как соединение I, соединение II, соединение III и/или соединение IV на основании данных *in vitro* и/или клинических данных. В некоторых вариантах реализации, изобретения пациент является гетерозиготным по F508del, и другая генетическая мутация CFTR представляет собой любую CF-вызывающую мутацию, и ожидается, что она будет реагировать и/или реагирует на любую комбинацию из (i) раскрытых в данном документе новых соединений, таких как соединение I, и (ii) соединение II, и/или соединение III, и/или соединение IV на основании данных *in vitro* и/или клинических данных.

В некоторых вариантах реализации, в способах лечения, уменьшения тяжести или симптоматического лечения муковисцидоза, раскрытых в данном документе, пациент имеет генетическую мутацию CFTR, выбранную из любой из мутаций, перечисленных в табл. А.

## CF мутации

078delT
1078delT
11234V
1154insTC
1161delC
1213delT
1248+1G→A
1249-1G→A
124del23bp
1259insA
1288insTA
1341+1G->A
1342-2A->C
1461ins4
1471delA
1497delGG
1507del
1525-1G→A
1525-2A→G
1548delG
1577delTA
1609del CA
1677delTA
1716G/A
1717-1G→A
1717-8G→A
1782delA
1811+1.6kbA->G 1811+1G->C
1811+1.6kbA→G
1811+1G→C
1812-1G->A 1898+1G->A
1812-1G→A
1824delA
182delT 1119delA

## 041961

185+1G→T
1898+1G->T
1898+1G→A
1898+1G→C
1898+3A->G
1898+5G->T
1924del7
1949del84
2043delG
2055del9→A
2105-2117del13insAGAAA
2118del14
2143delT
2183AA->G+
2183AA→G
2183AA→G <sup>a</sup>
2183delAA->G#
2183delAA→G
2184delA
2184insA
2307insA
2347delG
2556insAT
2585delT
2594delGT
2622+1G->A
2622+1G->A
2659delC
2711delT
271delT
2721del11
2732insA
2789+2insA
2789+5G→A

## 041961

2790-1G→C
2790-1G->C
2869insG
2896insAG
2942insT
2957delT
296+1G→A
2991del32
3007delG
3028delA
3040G→C
306insA
306insA 1138insG
3120G→A
3121-1G→A
3121-2A→G
3121-977_3499+248 del2515
3132delTG
3141del9
3171delC
3195del6
3199del6
3272-26A->G
3500-2A→G
3600+2insT
365-366insT
3659delC
3667ins4
3737delA
3791delC
3821delT
3849+10kbC→T
3849+10kbC->T
3850-1G→A

3850-3T->G
3850-1G->A
3876delA
3878delG
3905InsT
3905insT
394delTT
4005+1G->A 4005+2T->C
4005+1G->A
4005+1G->A
4010del4
4015delA
4016insT
4021dupT
4040delA
405+1G->A
405+3A->C
405+1G->A
406-1G->A
406-1G->A
4209TGTT->A
4209TGTT->AA
4279insA
4326delTC
4374+1G->T
4374+1G->T
4382delA
4428insGA
442delA
457TAT->G
541delC
574delA
5T
621+1G->T

## 041961

621+3A->G
663delT
663delT 1548delG
675del4
711+1G->T 711+3A->G
711+1G->T
711+3A->G
711+5G->A
712-1G->T
7T
852del22
935delA
991del5
A1006E
A120T
A234D
A349V
A455E
A613T
A46D
A46Db
A559T
A559Tb
A561E
C276X
C524R
C524X
CFTRdel2,3
CFTRdele22-23
D110E
D110H
D1152H
D1270N
D192G

D443Y
D513G
D579G
D614G
D836Y
D924N
D979V
E1104X
E116K
E1371X
E193K
E193X
E403D
E474K
E56K
E585X
E588V
E60K
E822K
E822X
E831X
E92K
E92X
F1016S
F1052V
F1074L
F1099L
F191V
F311del
F311L
F508C
F508del
F575Y
G1061R

G1069R
G1244E
G1249R
G126D
G1349D
G149R
G178R
G194R
G194V
G27R
G27X
G314E
G330X
G458V
G463V
G480C
G542X
G550X
G551D
G551S
G576A
G622D
G628R
G628R(G->A) G970D
G673X
G85E
G91R
G970R
G970R
H1054D
H1085P
H1085R
H1375P
H139R

H199R
H199Y
H609R
H939R
I1005R
I1027T
I1234V
I1269N
I1366N
I148T
I175V
I3336K
I502T
I506S
I506T
I507del
I507del
I601F
I618T
I807M
I980K
IVS14b+5G->A
K710X
K710X
K710X
L102R
L1065P
L1077P
L1077Pb
L1254X
L1324P
L1335P
L138ins
L1480P

L15P
L165S
L206W
L218X
L227R
L320V
L346P
L453S
L467P
L467Pb
L558S
L571S
L732X
L927P
L967S
L997F
M1101K
M1101R
M152V
M1T M1V
M265R
M470V
M952I
M952T
N1303K
P205S
P574H
P5L
P67L
P750L
P99L
Q1100P
Q1291H
Q1291R

Q1313X
Q1382X
Q1411X
Q1412X
Q220X
Q237E
Q237H Q452P
Q290X
Q359K/T360K
Q39X
Q414
Q414X
E585X
Q493X
Q525X
Q552X
Q685X
Q890X
Q890X
Q98R
Q98X
R1066C R1066H
R1066M
R1070Q
R1070W
R1102X
R1158X
R1162L
R1162X
R117C
R117G
R117H
R117L
R117P

R1283M
R1283S
R170H
R258G
R31C
R31L
R334L
R334Q
R334W
R347H
R347L
R347P
R352Q
R352W
R516G
R553Q
R553X
R560K
R560S
R560T
R668C
R709X
R74W
R751L
R75Q
R75X
R764X
R792G
R792X
R851X
R933G
S1118F
S1159F
S1159P

041961

S1196X
S1235R
S1251N
S1255P
S1255X
S13F
S341P
S434X
S466X
S489X
S492F
S4X
S549N
S549R
S549R(A->C)
S549R(T->G)
S589N
S737F
S912L
S912X
S945L
S977F
T1036N
T1053I
T1246I
T338I
T604I
V1153E V1240G
V1293G
V201M
V232D V456A
V456F
V520F
V562I

V754M
W1089X
W1098C
W1098R
W1098X
W1204X
W1282R
W1282X
W361R
W401X
W496X
W57G
W57R
W57X
W846X
Y1014C
Y1032C
Y1092X
Y109N
Y122X
Y161D
Y161S
Y563D
Y563N
Y569C
Y569D
Y569Db
Y849X
Y913C
Y913X

В некоторых вариантах реализации, в способах лечения, уменьшения тяжести или симптоматического лечения муковисцидоза, раскрытых в данном документе, пациент имеет генетическую мутацию CFTR, выбранную из G178R, G551S, G970R,

G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V, G1069R, R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W,

F1074L, D110E, D1270N, D1152H, 1717-1G->A, 621+1G->T, 3120+1G->A, 1898+1G->A, 711+1G->T, 2622+1G->A, 405+1G->A, 406-1G->A, 4005+1G->A, 1812-1G->A, 1525-1G->A, 712-1G->T, 1248+1G->A, 1341+1G->A, 3121-1G->A, 4374+1G->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G->A, 3120G->A, 1811+1.6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3A->C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C, 621+3A->G, 1949del84, 3141del9, 3195del6, 3199del6, 3905InsT, 4209TGTT->A, A1006E, A120T, A234D, A349V, A613T, C524R, D192G, D443Y, D513G, D836Y, D924N, D979V, E116K, E403D, E474K, E588V, E60K, E822K, F1016S, F1099L, F191V, F311del, F311L, F508C, F575Y, G1061R, G1249R, G126D, G149R, G194R, G194V, G27R, G314E, G458V, G463V, G480C, G622D, G628R, G628R(G->A), G91R, G970D, H1054D, H1085P, H1085R, H1375P, H139R, H199R, H609R, H939R, I1005R, I1234V, I1269N, I1366N, I175V, I502T, I506S, I506T, I601F, I618T, I807M, I980K, L102R, L1324P, L1335P, L138ins, L1480P, L15P, L165S, L320V, L346P, L453S, L571S, L967S, M1101R, M152V, M1T, M1V, M265R, M952I, M952T, P574H, P5L, P750L, P99L, Q1100P, Q1291H, Q1291R, Q237E, Q237H, Q452P, Q98R, R1066C, R1066H, R117G, R117L, R117P, R1283M, R1283S, R170H, R258G, R31L, R334L, R334Q, R347L, R352W, R516G, R553Q, R751L, R792G, R933G, S1118F, S1159F, S1159P, S13F, S549R(A->C), S549R(T->G), S589N, S737F, S912L, T1036N, T1053I, T1246I, T604I, V1153E, V1240G, V1293G, V201M, V232D, V456A, V456F, V562I, W1098C, W1098R, W1282R, W361R, W57G, W57R, Y1014C, Y1032C, Y109N, Y161D, Y161S, Y563D, Y563N, Y569C и Y913C.

В некоторых вариантах реализации, пациент имеет по меньшей мере одну комбинационную мутацию, выбранную из: G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P,

G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V, G1069R, R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N, D1152H, 1717-1G->A, 621+1G->T, 3120+1G->A, 1898+1G->A, 711+1G->T, 2622+1G->A, 405+1G->A, 406-1G->A, 4005+1G->A, 1812-1G->A, 1525-1G->A, 712-1G->T, 1248+1G->A, 1341+1G->A, 3121-1G->A, 4374+1G->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G->A, 3120G->A, 1811+1.6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3A->C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C и 621+3A->G.

В некоторых вариантах реализации, пациент имеет по меньшей мере одну комбинационную мутацию, выбранную из: 1949del84, 3141del9, 3195del6, 3199del6,

3905InsT, 4209TGTT->A, A1006E, A120T, A234D, A349V, A613T, C524R, D192G, D443Y, D513G, D836Y, D924N, D979V, E116K, E403D, E474K, E588V, E60K, E822K, F1016S, F1099L, F191V, F311del, F311L, F508C, F575Y, G1061R, G1249R, G126D, G149R, G194R, G194V, G27R, G314E, G458V, G463V, G480C, G622D, G628R, G628R(G->A), G91R, G970D, H1054D, H1085P, H1085R, H1375P, H139R, H199R, H609R, H939R, I1005R, I1234V, I1269N, I1366N, I175V, I502T, I506S, I506T, I601F, I618T, I807M, I980K, L102R, L1324P, L1335P, L138ins, L1480P, L15P, L165S, L320V, L346P, L453S, L571S, L967S, M1101R, M152V, M1T, M1V, M265R, M952I, M952T, P574H, P5L, P750L, P99L, Q1100P, Q1291H, Q1291R, Q237E, Q237H, Q452P, Q98R, R1066C, R1066H, R117G, R117L, R117P, R1283M, R1283S, R170H, R258G, R31L, R334L, R334Q, R347L, R352W, R516G, R553Q, R751L, R792G, R933G, S1118F, S1159F, S1159P, S13F, S549R(A->C), S549R(T->G), S589N, S737F, S912L, T1036N, T1053I, T1246I, T604I, V1153E, V1240G, V1293G, V201M, V232D, V456A, V456F, V562I, W1098C, W1098R, W1282R, W361R, W57G, W57R, Y1014C, Y1032C, Y109N, Y161D, Y161S, Y563D, Y563N, Y569C и Y913C.

В некоторых вариантах реализации, в способах лечения, уменьшения тяжести или симптоматического лечения муковисцидоза, раскрытых в данном документе, пациент имеет генетическую мутацию CFTR G551D. В некоторых вариантах реализации, пациент является гомозиготным по генетической мутации G551D. В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по генетической мутации G551D. В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по генетической мутации G551D, имея мутацию G551D в одном аллеле и любую другую вызывающую CF мутацию в другом аллеле. В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по генетической

мутации G551D в одном аллеле, а другой CF-вызывающей генетической мутацией в другом аллеле является любая из F508del, G542X, N1303K, W1282X, R117H, R553X, 1717-1G->A, 621+1G->T, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, R1162X, G85E, 3120+1G->A, ΔI507, 1898+1G->A, 3659delC, R347P, R560T, R334W, A455E, 2184delA или 711+1G->T. В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по генетической мутации G551D, а другой генетической мутацией CFTR является F508del. В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по генетической мутации G551D, а другой генетической мутацией CFTR является R117H.

В некоторых вариантах реализации, в способах лечения, уменьшения тяжести или симптоматического лечения муковисцидоза, раскрытых в данном документе, пациент имеет генетическую мутацию CFTR F508del. В некоторых вариантах реализации, пациент является гомозиготным по генетической мутации F508del. В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по генетической мутации F508del, причем у пациента имеется генетическая мутация F508del в одном аллеле и любая вызывающая CF генетическая мутация в другом аллеле. В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по F508del, и другая генетическая мутация CFTR представляет собой любую CF-вызывающую мутацию, включая, но, не ограничиваясь этим, G551D, G542X, N1303K, W1282X, R117H, R553X, 1717-1G->A, 621+1G->T, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, R1162X, G85E, 3120+1G->A, ΔI507, 1898+1G->A, 3659delC, R347P, R560T, R334W, A455E, 2184delA, или 711+1G->T. В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по генетической мутации F508del, а другой генетической мутацией CFTR является G551D. В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по генетической мутации F508del, а другой генетической мутацией CFTR является R117H.

В некоторых вариантах реализации, пациент имеет, по меньшей мере одну комбинационную мутацию, выбранную из

D443Y;G576A;R668C,  
F508C;S1251N,  
G576A; R668C,  
G970R; M470V,  
R74W;D1270N,  
R74W;V201M и  
R74W;V201M;D1270N.

В некоторых вариантах реализации, в способах лечения, уменьшения тяжести или симптоматического лечения муковисцидоза, раскрытых в данном документе, пациент имеет генетическую мутацию CFTR выбранную из G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V и G1069R. В некоторых вариантах реализации, пациент имеет генетическую мутацию CFTR, выбранную из G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R и S1251N. В некоторых вариантах реализации, пациент имеет генетическую мутацию CFTR, выбранную из E193K, F1052V и G1069R. В некоторых вариантах реализации, способ обеспечивает увеличение транспорта хлорида по сравнению с исходным транспортом хлорида пациента.

В некоторых вариантах реализации, в способах лечения, уменьшения тяжести или симптоматического лечения муковисцидоза, раскрытых в данном документе, пациент имеет генетическую мутацию CFTR выбранную из R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N и D1152H.

В некоторых вариантах реализации, пациент имеет генетическую мутацию CFTR, выбранной из 1717-1G->A, 621+1G->T, 3120+1G->A, 1898+1G->A, 711+1G->T, 2622+1G->A, 405+1G->A, 406-1G->A, 4005+1G->A, 1812-1G->A, 1525-1G->A, 712-1G->T, 1248+1G->A, 1341+1G->A, 3121-1G->A, 4374+1G->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G->A, 3120G->A, 1811+1.6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3A->C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C и 621+3A->G. В некоторых вариантах реализации, пациент имеет генетическую мутацию CFTR, выбранную из 1717-1G->A, 1811+1.6kbA->G, 2789+5G->A, 3272-26A->G и 3849+10kbC->T. В некоторых вариантах реализации, пациент имеет генетическую мутацию CFTR, выбранную из 2789+5G->A и 3272-26A->G.

В некоторых вариантах реализации, в способах лечения, уменьшения тяжести или симптоматического лечения муковисцидоза, раскрытых в данном документе, пациент имеет генетическую мутацию CFTR, выбранной из G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V, G1069R, R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N, D1152H, 1717-1G-> A, 621+1G-> T, 3120+1G-> A, 1898+1G-> A, 711+1G-> T, 2622+1G-> A, 405+1G-> A, 406-1G-> A, 4005+1G-> A, 1812-1G-> A, 1525-1G-> A, 712-1G-> T, 1248+1G-> A, 1341+1G-> A, 3121-1G-> A, 4374+1G-> T, 3850-1G-> A, 2789+5G-> A, 3849+10kbC-> T, 3272-26A-> G, 711+5G-> A, 3120G-> A, 1811+1,6kbA-> G, 711+ 3A-> G, 1898+3A-> G, 1717-8G-> A, 1342-2A-> C, 405+3A-> C, 1716G/A, 1811+1G-> C, 1898+5G-> T, 3850-3T-> G, IVS14b+5G-> A, 1898+1G-> T, 4005+2T-> C и 621+3A-> G, и мутации CFTR человека, выбранные из F508del, R117H и G551D.

В некоторых вариантах реализации, в способах лечения, уменьшения тяжести или симптоматического

ского лечения муковисцидоза, раскрытых в данном документе, пациент имеет генетическую мутацию CFTR, выбранную из G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V, G1069R, R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N, D1152H, 1717-1G->A, 621+1G->T, 3120+1G->A, 1898+1G->A, 711+1G->T, 2622+1G->A, 405+1G->A, 406-1G->A, 4005+1G->A, 1812-1G->A, 1525-1G->A, 712-1G->T, 1248+1G->A, 1341+1G->A, 3121-1G->A, 4374+1G->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G->A, 3120G->A, 1811+1.6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3A->C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C, 621+3A->G, и мутацию CFTR, выбранную из F508del, R117H и G551D; и мутацию CFTR, выбранную из F508del, R117H HG551D.

В некоторых вариантах реализации, пациент имеет генетическую мутацию CFTR, выбранную из G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V и G1069R, и мутацию CFTR человека, выбранную из F508del, R117H, и G551D. В некоторых вариантах реализации, пациент имеет генетическую мутацию CFTR, выбранную из G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R и S1251N, и мутацию CFTR человека, выбранную из F508del, R117H, и G551D. В некоторых вариантах реализации, пациент имеет генетическую мутацию CFTR, выбранную из E193K, F1052V и G1069R, и мутацию CFTR человека, выбранную из F508del, R117H и G551D.

В некоторых вариантах реализации, пациент имеет генетическую мутацию CFTR, выбранную из R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N и D1152H, и мутацию CFTR человека, выбранную из F508del, R117H, и G551D.

В некоторых вариантах реализации, пациент имеет генетическую мутацию CFTR, выбранную из 1717-1G->A, 621+1G->T, 3120+1G->A, 1898+1G->A, 711+1G->T, 2622+1G->A, 405+1G->A, 406-1G->A, 4005+1G->A, 1812-1G->A, 1525-1G->A, 712-1G->T, 1248+1G->A, 1341+1G->A, 3121-1G->A, 4374+1G->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G->A, 3120G->A, 1811+1.6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3A->C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C и 621+3A->G, и мутацию CFTR человека, выбранную из F508del, R117H, и G551D. В некоторых вариантах реализации, пациент имеет генетическую мутацию CFTR, выбранную из 1717-1G->A, 1811+1.6kbA->G, 2789+5G->A, 3272-26A->G и 3849+10kbC->T, и мутацию CFTR человека, выбранную из F508del, R117H и G551D. В некоторых вариантах реализации, пациент имеет генетическую мутацию CFTR, выбранную из 2789+5G->A и 3272-26A->G, и мутацию CFTR человека, выбранную из F508del, R117H.

В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным, имеющим CF-вызывающую мутацию в одном аллеле и CF-вызывающую мутацию в другом аллеле. В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по F508del, а другая генетическая мутация CFTR представляет собой любую CF-вызывающую мутацию, включая, но, не ограничиваясь этим, F508del в одном аллеле CFTR и мутацию CFTR во втором аллеле CFTR, которая связана с минимальной функцией CFTR, остаточной функцией CFTR или дефектом активности гейтинга канала CFTR.

В некоторых вариантах реализации, CF-вызывающая мутация выбрана из мутаций перечисленных в Таблице А. В некоторых вариантах реализации, CF-вызывающая мутация выбрана из мутаций перечисленных в табл. В. В некоторых вариантах реализации, CF-вызывающая мутация выбрана из мутаций перечисленных в табл. С. В некоторых вариантах реализации, CF-вызывающая мутация выбрана из мутаций представленных на фиг. 1. В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным, имеющим CF-вызывающую мутацию в одном аллеле CFTR, выбранную из мутаций, перечисленных в табл. на фиг. 1, и CF-вызывающую мутацию во втором аллеле CFTR выбранную из мутаций CFTR, перечисленных в табл. В.

**041961**

Таблица В  
Мутации CFTR  
Q39X

W57X

E60X

R75X

E92X

Q98X

Y122X

L218X

Q220X

C276X

Q290X

G330X

W401X

Q414X

S434X

S466X

**041961**

S489X  
Q493X  
W496X  
Q525X  
G542X  
Q552X  
R553X  
E585X  
G673X  
R709X  
K710X  
L732X  
R764X  
R785X  
R792X  
E822X  
W846X  
R851X  
Q890X  
S912X  
W1089X  
Y1092X  
E1104X  
R1158X  
R1162X  
S1196X  
W1204X  
S1255X  
W1282X  
Q1313X  
621+1G→T  
711+1G→T  
711+5G→A  
712-1G→T  
405+1G→A

**041961**

405+3A→C  
406-1G→A  
621+1G→T  
1248+1G→A  
1341+1G→A  
1717-1G→A  
1811+1.6kbA→G  
1811+1G→C  
1812-1G→A  
1898+1G→A  
2622+1G→A  
3120+1G→A  
3120G→A  
3850-1G→A  
4005+1G→A  
4374+1G→T  
663delT  
2183AA→G  
CFTRdel2,3  
3659delC  
394delTT  
2184insA  
3905insT  
2184delA  
1078delT  
1154insTC  
2183delAA→G  
2143delT  
1677delTA  
3876delA  
2307insA  
4382delA  
4016insT  
2347delG  
3007delG

**041961**

574delA  
2711delT  
3791delC  
CFTRdele22-23  
457TAT→G  
2043delG  
2869insG  
3600+2insT  
3737delA  
4040delA  
541delC  
A46D  
T338I  
R347P  
L927P  
G85E  
S341P  
L467P  
I507del  
V520F  
A559T  
R560T  
R560S  
A561E  
Y569D  
L1065P  
R1066C  
R1066M  
L1077P  
H1085R  
M1101K  
N1303K  
3849+10kbC→T  
3272-26A→G  
711+3A→G

041961

E56K  
P67L  
R74W  
D110E  
D110H  
R117C  
L206W  
R347H  
R352Q  
A455E  
D579G  
E831X  
S945L  
S977F  
F1052V  
R1070W  
F1074L  
D1152H  
D1270N  
G178R  
S549N  
S549R  
G551D  
G551S  
G1244E  
S1251N  
S1255P  
G1349D

Таблица С

Мутации CFTR

Критерии	Мутация				
Мутации с	Q2X	L218X	Q525X	R792X	E1104X
усечением или					W1145
нонсенс-мутации	S4X	Q220X	G542X	E822X	X
%PI >50% и/или	W19X	Y275X	G550X	W882X	R1158X
SwCl <sup>-</sup> >86 ммоль/л	G27X	C276X	Q552X	W846X	R1162X

## 041961

Отсутствие полноразмерного белка	Q39X	Q290X	R553X	Y849X	S1196X	
	W57X	G330X	E585X	R851X	W1204 X	
	E60X	W401X	G673X	Q890X	L1254X	
	R75X	Q414X	Q685X	S912X	S1255X	
	L88X	S434X	R709X	Y913X	W1282 X	
	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	
Мутации сплайсинга или канонические мутации сплайсинга %PI >50% и/или SwCl>86 ммоль/л Отсутствует или небольшое количество зрелой мРНК	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+1 G→A	1811+1G→C	3040G→C	3600+2in sT	
	405+1G→ A	1249- 1G→A	1811+1.6kbA→ G	(G970R)	3850- 1G→A	
	405+3A→ C	1341+1 G→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			
	Мутации малой (≤3 нуклеотида) вставки/делеции (ins/del) в рамке считывания %PI >50% и/или SwCl>86 ммоль/л	182delT	1078del T	1677delTA	2711delT	3737delA
		306insA	1119del A	1782delA	2732insA	3791delC
	306delTAG	1138ins G	1824delA	2869insG	3821delT	
	365-	1154ins	1833delT	2896insAG	3876delA	

041961

Искаженный и/или усеченный белок	366insT	TC			
	394delTT	1161del C	2043delG	2942insT	3878delG
	442delA	1213del T	2143delT	2957delT	3905insT
	444delA	1259ins A	2183AA→G <sup>a</sup>	3007delG	4016insT
	457TAT→ G	1288ins TA	2184delA	3028delA	4021dup T
	541delC	1343del G	2184insA	3171delC	4022insT
	574delA	1471del A	2307insA	3171insC	4040delA
	663delT	1497del GG	2347delG	3271delGG	4279insA
	849delG	1548del G	2585delT	3349insT	4326delT C
	935delA	1609del CA	2594delGT	3659delC	
Мутации не-малой (>3 нуклеотида) вставки/делеции (ins/del) в рамке считывания %PI >50% и/или SwCl>86 ммоль/л Искаженный и/или усеченный белок	CFTRdele1	CFTRdele16-17b		1461ins4	
	CFTRdele2	CFTRdele17a,17b		1924del7	
	CFTRdele2,3	CFTRdele17a-18		2055del9→A	
	CFTRdele2-4	CFTRdele19		2105-	
	CFTRdele3-10,14b-16	CFTRdele19-21		2117del13insAGAAA	
	CFTRdele4-7	CFTRdele21		2372del8	
	CFTRdele4-11	CFTRdele22		2721del11	
	CFTRdele4-11	CFTRdele22-24		2991del32	
	CFTR50kdel	CFTRdele22,23		3121-	
	CFTRdup6b-10	124del23bp		977_3499+248del251 5	
CFTRdele11	602del14		3667ins4		
CFTRdele13,14a	852del22		4010del4		
CFTRdele14b-	991del5		4209TGTT→AA		

17b

Мутации класса II,	A46D <sup>b</sup>	V520F	Y569D <sup>b</sup>	N1303K
III, IV, не реагирующие	на G85E R347P	A559T <sup>b</sup>	L1065P	R1066C
Соединение II,	L467P <sup>b</sup>	R560S	L1077P <sup>b</sup>	
Соединение III или	I507del	A561E	M1101K	
Соединение II/Соединение III /,				
или нон-сенс мутации, которые:				
%PI >50% и/или SwCl >86 ммоль/л				
И In vitro не реагируют на Соединение II, Соединение III или Соединение II/Соединение III				

CFTR: трансмембранный регулятор проводимости при муковисцидозе;

SwCl: уровень хлорида в поте

Источник: CFTR2.org [Интернет]. Балтимор (Мэриленд): Clinical and functional translation of CFTR. The Clinical and Functional Translation of CFTR (CFTR2), US Cystic Fibrosis Foundation, Johns Hopkins University, the Hospital for Sick Children. Доступно по адресу: <http://www.cftr2.org/>. Доступ 15 февраля 2016 г.

Примечания: %PI: процент F508del-CFTR гетерозиготных пациентов в реестре пациентов с CFTR2, у которых имеется недостаточность поджелудочной железы;

SwCl: средний уровень хлорида в поте у F508del-CFTR гетерозиготных пациентов в реестре пациентов CFTR2

<sup>a</sup> также известная как 2183delAA→G

<sup>b</sup> Неопубликованные данные

В некоторых вариантах реализации, пациент имеет генотип F508del/MF (F/MF) (гетерозиготный по F508del и мутации MF, которая, как ожидается, не будет отвечать на модуляторы CFTR, такие как соединение III); генотип F508del/F508del (F/F) (гомозиготный по F508del); и/или генотип F508del/генотип (F/G) (гетерозиготный по F508del и гейтинг мутации, о которых известно, что они отвечают на модулятор CFTR (например, реагируют на соединение III). В некоторых вариантах реализации, пациент с генотипами F508del/MF (F/MF) имеет мутацию MF, которая, как ожидается, не будет отвечать на соединение II, соединение III и оба на соединение II и соединение III. В некоторых вариантах реализации, пациент с генотипами F508del/MF (F/MF) имеет одну из мутаций MF в табл. С.

В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по F508del, а другая генетическая мутация CFTR представляет собой любую CF-вызывающую мутацию, включая мутации с усечением, мутации сплайсинга, мутации малой (<3 нуклеотида) вставки/делеции (ins/del) в рамке считывания; мутации не-малой (>3 нуклеотида) вставки/делеции (ins/del) в рамке считывания; и мутации класса II, III, IV, не отвечающие на соединение III отдельно или в сочетании с соединением II или соединением IV.

В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по генетической мутации F508del, а другой генетической мутацией CFTR является мутацией с усечением. В некоторых конкретных вариантах реализации мутация с усечением представляет собой мутацию с усечением, указанную в табл. С.

В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по F508del, а другая генетическая мутация CFTR представляет собой мутацию сплайсинга. В некоторых конкретных вариантах реализации, мутация сплайсинга представляет собой мутацию сплайсинга, указанную в табл. С.

В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по F508del, а другая генетическая мутация CFTR представляет собой мутацию малой (<3 нуклеотида) вставки/делеции (ins/del) в рамке считывания. В некоторых конкретных вариантах реализации, мутация малой (<3 нуклеотида) вставки/делеции (ins/del) в рамке считывания представляет собой мутацию малой (<3 нуклеотида) вставки/делеции (ins/del) в рамке считывания, указанную в табл. С.

В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по F508del, и другая генетическая мутация CFTR представляет собой любую вызывающую CF мутацию, которая, как ожидается, реагирует и/или будет реагировать на, на основании данных *in vitro* и/или клинических данных, любую комбинацию (i) нового соединения, выбранного из раскрытых в данном документе (например, соединения формулы (I), (II), (III), (IV) или (V) и их фармацевтически приемлемые соли и их дейтерированные производные), и (ii) соединения II и/или соединения III, и/или соединения IV.

В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по F508del, и другая генетическая мутация CFTR представляет собой любую вызывающую CF мутацию, которая, как ожидается, реагирует и/или будет реагировать на, на основании данных *in vitro* и/или клинических данных, тройную комбинацию нового соединения, выбранного из раскрытых в данном документе (например, соединения формулы (I), (II), (III), (IV) или (V) и их фармацевтически приемлемые соли и их дейтерированные производные), и соединения II и соединения III.

В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по F508del, а другая генетическая мутация CFTR представляет собой мутацию не-малой (>3 нуклеотида) вставки/делеции (ins/del) в рамке считывания. В некоторых конкретных вариантах реализации, мутация не-малой (>3 нуклеотида) вставки/делеции (ins/del) в рамке считывания представляет собой мутацию не-малой (>3 нуклеотида) вставки/делеции (ins/del) в рамке считывания, приведенную в табл. 5B.

В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по F508del, а другая генетическая мутация CFTR представляет собой мутацию класса II, III, IV, не отвечающую на соединение III отдельно или в комбинации с соединением II или соединением IV. В некоторых конкретных вариантах реализации, мутации класса II, III, IV, не отвечающие на соединение III отдельно или в комбинации с соединением II или соединением IV, представляют собой мутации класса II, III, IV, не отвечающие на соединение III отдельно или в комбинации с соединением II или соединением IV приведенные в табл. С.

В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по генетической мутации F508del, а другой генетической мутацией CFTR является любая мутация, приведенная в табл. С.

В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по F508del, а другая генетическая мутация CFTR представляет собой любую мутацию, отличную от F508del, приведенную в табл. А, В, С и на фиг. 1.

В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по F508del, а другой генетической мутацией CFTR является любая мутация, приведенная в табл. А. В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по F508del, а другой генетической мутацией CFTR является любая мутация, приведенная в табл. В. В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по F508del, а другой генетической мутацией CFTR является любая мутация, приведенная в табл. С. В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным по F508del, а другой генетической мутацией CFTR является любая мутация, указанная на фиг. 1.

В некоторых вариантах пациент является гомозиготным по F508del.

В некоторых вариантах реализации, пациент является гетерозиготным, имеющим одну CF-вызывающую мутацию в одном аллеле CFTR, выбранную из мутаций, перечисленных в табл. на фиг. 1, и CF-вызывающую мутацию во втором аллеле CFTR выбранную из мутаций CFTR, перечисленных в табл. С.

В некоторых вариантах реализации, тройные комбинации вводят пациенту, который имеет одну мутацию F508del и одну минимальную функциональную мутацию и который не принимал ни одно из указанных, по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I, и его фармацевтически приемлемых солей, по меньшей мере, одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей и по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III или III-d, и его фармацевтически приемлемых солей.

В некоторых вариантах реализации, композиция, раскрытая в данном документе, полезна для лечения, уменьшения тяжести или симптоматического лечения муковисцидоза у пациентов, которые проявляют остаточную активность CFTR в апикальной мембране респираторного и не респираторного эпителия. Присутствие остаточной активности CFTR на поверхности эпителия можно легко обнаружить, используя способы, известные в данной области техники, например, стандартные электрофизиологические, биохимические или гистохимические способы. Такие способы идентифицируют активность CFTR, используя электрофизиологические способы *in vivo* или *ex vivo*, измерение концентрации Cl<sup>-</sup> в поте или слюне, или биохимические или гистохимические способы *ex vivo* для мониторинга плотности поверхности клеток. Используя такие способы, остаточная активность CFTR может быть легко обнаружена у пациентов, которые являются гетерозиготными или гомозиготными по множеству различных мутаций, включая пациентов, гетерозиготных по наиболее распространенной мутации, F508del, а также других мутаций, таких как мутация G551D или R117H мутация. В некоторых вариантах реализации, компози-

ции, раскрытые в данном документе, полезны для лечения, уменьшения тяжести или симптоматического лечения муковисцидоза у пациентов, которые проявляют остаточную активность CFTR или не имеют ее. В некоторых вариантах реализации, композиции, раскрытые в данном документе, полезны для лечения, уменьшения тяжести или симптоматического лечения муковисцидоза у пациентов, которые проявляют остаточную активность CFTR или не имеют ее в апикальной мембране респираторного эпителия.

В некоторых вариантах реализации, композиции, раскрытые в данном документе, полезны для лечения или уменьшения тяжести муковисцидоза у пациентов, которые проявляют остаточную активность CFTR с использованием фармакологических способов. Такие способы увеличивают количество CFTR, присутствующего на поверхности клетки, тем самым индуцируя отсутствующую активность CFTR у пациента или увеличивая существующий уровень остаточной активности CFTR у пациента.

В некоторых вариантах реализации, раскрытые в данном документе композиции полезны для лечения или уменьшения тяжести муковисцидоза у пациентов с определенными генотипами, проявляющими остаточную активность CFTR.

В некоторых вариантах реализации, композиции, раскрытые в данном документе, полезны для лечения, уменьшения тяжести или симптоматического лечения муковисцидоза у пациентов с определенными клиническими фенотипами, например, с легким или умеренным клиническим фенотипом, который обычно коррелирует с остаточной активностью CFTR в апикальной мембране эпителия. Такие фенотипы включают пациентов, проявляющих достаточность поджелудочной железы.

В некоторых вариантах реализации, композиции, раскрытые в данном документе, полезны для лечения, уменьшения тяжести или симптоматического лечения пациентов с диагнозом достаточности поджелудочной железы, идиопатическим панкреатитом и врожденным двусторонним отсутствием семявыносящих протоков или легким заболеванием легких, при котором у пациента проявляется остаточная активность CFTR.

В некоторых вариантах реализации, это описание относится к способу увеличения или индукции активности анионных каналов *in vitro* или *in vivo*, включающему приведение канала в контакт с композицией, раскрытой в данном документе. В некоторых вариантах реализации, анионный канал представляет собой хлоридный канал или бикарбонатный канал. В некоторых вариантах реализации, анионный канал представляет собой хлоридный канал. В некоторых вариантах реализации, способов лечения муковисцидоза, раскрытых в данном документе, абсолютное изменение процента прогнозируемого объема форсированного выдоха пациента в одну секунду (ppFEV<sub>1</sub>) после 29 дней введения, по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей, и, по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III или III-d и его фармацевтически приемлемых солей, составляет от 3 до 40% относительно ppFEV<sub>1</sub> пациента перед указанным введением. В некоторых вариантах реализации, способов лечения муковисцидоза, раскрытых в данном документе, абсолютное изменение ppFEV<sub>1</sub> после 29 дней введения, по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей, и, по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III или III-d и его фармацевтически приемлемых солей, составляет от 3% до 35% относительно ppFEV<sub>1</sub> пациента перед указанным введением.

В некоторых вариантах реализации, способов лечения муковисцидоза, раскрытых в данном документе, абсолютное изменение ppFEV<sub>1</sub> после 29 дней введения, по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей, и, по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III или III-d и его фармацевтически приемлемых солей, составляет от 7 до 40% относительно ppFEV<sub>1</sub> пациента перед указанным введением, например, от 8 до 40% и далее, например, от 11 до 40%.

В некоторых вариантах реализации, способов лечения муковисцидоза, раскрытых в данном документе, абсолютное изменение ppFEV<sub>1</sub> после 29 дней введения, по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей, и, по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III или III-d и его фармацевтически приемлемых солей, составляет от 9 до 40% относительно ppFEV<sub>1</sub> пациента перед указанным введением, например, от 10 до 40% и далее, например, от 12 до 40%.

В некоторых вариантах реализации, способов лечения муковисцидоза, раскрытых в данном документе, абсолютное изменение уровня хлорида в поте пациента после 29 дней введения, по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей, и, по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III или III-d и его фармацевтически приемлемых солей, составляет от -6 до -65 ммоль/л относительно базовой линии, то есть, относительно уровня хлорида в поте пациента перед указанным введением. В некоторых вариантах реализации, абсолютное изменение уровня хлорида в поте указанного пациента составляет от -8 до -65 ммоль/л. В некоторых ва-

риантах реализации, абсолютное изменение уровня хлорида в поте указанного пациента составляет от -9 до -65 ммоль/л. В некоторых вариантах реализации, абсолютное изменение уровня хлорида в поте указанного пациента составляет от -10 до -65 ммоль/л. В некоторых вариантах реализации, абсолютное изменение уровня хлорида в поте указанного пациента составляет от -11 до -65 ммоль/л. В некоторых вариантах реализации, абсолютное изменение уровня хлорида в поте указанного пациента составляет от -22 до -65 ммоль/л. В некоторых вариантах реализации, абсолютное изменение уровня хлорида в поте указанного пациента составляет от -28 до -65 ммоль/л. В некоторых вариантах реализации, абсолютное изменение уровня хлорида в поте указанного пациента составляет от -33 до -65 ммоль/л.

В некоторых вариантах реализации, абсолютное изменение  $ppFEV_1$  пациента относительно  $ppFEV_1$  пациента до такого введения тройных комбинаций может быть рассчитано как (значение после - базовое значение). Базовое значение определяется как самое последнее непропущенное измерение, полученное до первой дозы исследуемого лекарственного средства в период лечения (день 1).

Точное количество необходимой фармацевтической композиции будет варьироваться от субъекта к субъекту в зависимости от вида, возраста и общего состояния субъекта, серьезности заболевания, конкретного агента, способа его введения и тому подобного. Соединения по данному изобретению могут быть составлены в форме единичной дозированной формы для простоты введения и единообразия дозировки. Используемое в данном документе выражение "единичная дозированная форма" относится к физически дискретной единице агента, подходящей для пациента, подлежащего лечению. Понятно, однако, что общее ежедневное использование соединений и композиций по изобретению будет решаться лечащим врачом в рамках здравого медицинского суждения. Конкретный эффективный уровень дозы для любого конкретного пациента или организма будет зависеть от множества факторов, включая расстройство, подвергаемое лечению, и тяжесть расстройства; активность конкретного используемого соединения; конкретный используемый состав; возраст, масса тела, общее состояние здоровья, пол и диета пациента; время введения, способ введения и скорость выведения конкретного используемого соединения; продолжительность лечения; лекарственных средств, используемых в комбинации или одновременно с конкретным применяемым соединением, и подобные факторы, хорошо известные в области медицины. Термин "пациент", используемый в данном документе, означает животное, такое как млекопитающее, и даже далее, такое как человек.

В некоторых вариантах реализации, раскрытие также относится к способам лечения с использованием меченных изотопами вышеупомянутых соединений, которые в некоторых вариантах реализации, упоминаются как соединение I', соединение II', соединение III', соединение III-d' или соединение IV'. В некоторых вариантах реализации, соединение I', соединение II', соединение III', соединение III-d', соединение IV' или их фармацевтически приемлемые соли, причем формула и переменные таких соединений и солей, являются такими, как описано выше, или в любых других вариантах реализации, описанных выше, имеют один или более атомов замененных атомом или атомами, имеющими атомную массу или массовое число, которое отличается от атомной массы или массового числа атома, которое обычно встречается в природе (изотопно мечены). Примеры изотопов, которые являются коммерчески доступными и пригодными для раскрытия, включают в себя 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.

Меченые изотопом соединения и соли могут быть использованы в ряде полезных способов. Они могут быть пригодны для получения лекарственных средств и/или различных типов анализов, таких как анализы распределения субстрата в ткани. Например, соединения, меченые тритием ( $^3\text{H}$ ) и/или углеродом-14 ( $^{14}\text{C}$ ), особенно полезны для различных типов анализов, таких как анализы распределения субстрата в ткани, благодаря относительно простому получению и превосходной обнаруживаемости. Например, меченые дейтерием ( $^2\text{H}$ ) соединения являются терапевтически полезными с потенциальными терапевтическими преимуществами по сравнению с не  $^2\text{H}$ -мечеными соединениями. В целом, соединения и соли, меченые дейтерием ( $^2\text{H}$ ), могут иметь более высокую метаболическую стабильность по сравнению с не мечеными изотопами вследствие кинетического изотопного эффекта, описанного ниже. Более высокая метаболическая стабильность приводит непосредственно к увеличению периода полувыведения *in vivo* или снижению доз, что может быть желательным. Изотопно-меченные соединения и соли обычно можно получить, выполнив процедуры, раскрытые в схемах синтеза и соответствующем описании, в части примера и в части получения в настоящем документе, заменив неизотопно-меченный реагент на легкодоступный изотопно-меченный реагент.

В некоторых вариантах реализации, изотопно-меченные соединения и соли являются мечеными дейтерием ( $^2\text{H}$ ). В некоторых конкретных вариантах реализации изотопно-меченные соединения и соли мечены дейтерием ( $^2\text{H}$ ), причем один или более атомов водорода в них заменены дейтерием. В химических структурах дейтерий представлен как "D".

Соединения и соли, меченые дейтерием ( $^2\text{H}$ ), могут контролировать окислительный метаболизм соединения посредством первичного кинетического изотопного эффекта. Первичный кинетический изотопный эффект представляет собой изменение скорости химической реакции, которая происходит в результате обмена изотопных ядер, что, в свою очередь, вызвано изменением энергий основного состояния, необходимых для образования ковалентной связи после указанного изотопного обмена. Обмен бо-

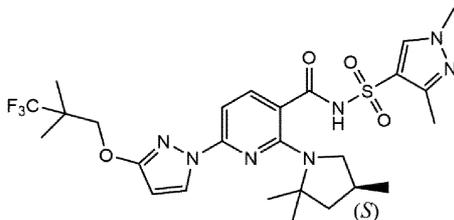
лее тяжелого изотопа обычно приводит к снижению энергии основного состояния для химической связи и, таким образом, вызывает уменьшение энергии разрыва связи, ограничивающей скорость. Если разрыв связи происходит в области седловой точки или вблизи нее вдоль координаты реакции с несколькими продуктами, коэффициенты распределения продуктов могут быть существенно изменены. Для объяснения: если дейтерий связан с атомом углерода в неизменяемом положении, типичны различия в скорости  $k_M/k_D=2-7$ . 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 включенной в настоящий документ в полном объеме посредством ссылки.

Концентрация изотопа(ов) (например, дейтерия), включенного в меченные изотопом соединения и соль по изобретению, может определяться коэффициентом изотопного обогащения. Используемый в данном документе термин "коэффициент изотопного обогащения" означает соотношение между изотопной распространенностью и естественной распространенностью указанного изотопа. В некоторых вариантах реализации, если заместитель в соединении по изобретению обозначен как дейтерий, такое соединение имеет коэффициент изотопного обогащения для каждого обозначенного атома дейтерия, по меньшей мере, 3500 (52,5% включения дейтерия на каждом обозначенном атоме дейтерия), по меньшей мере, 4000 (60% включения дейтерия), по меньшей мере 4500 (67,5% включения дейтерия), по меньшей мере 5000 (75% включения дейтерия), по меньшей мере 5500 (82,5% включения дейтерия), по меньшей мере 6000 (90% включения дейтерия), по меньшей мере 6333,3 (95% включения дейтерия), по меньшей мере 6466,7 (97% включения дейтерия), по меньшей мере 6600 (99% включения дейтерия) или по меньшей мере 6633,3 (99,5% включения дейтерия).

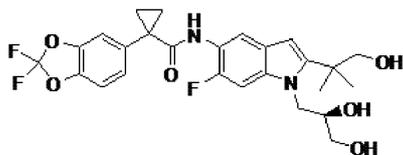
При открытии и разработке терапевтических агентов специалист в данной области техники пытается оптимизировать фармакокинетические параметры, сохраняя при этом желаемые свойства *in vitro*. Можно предположить, что многие соединения с плохим фармакокинетическим профилем подвержены окислительному метаболизму.

Примерные варианты реализации данного изобретения включают следующее.

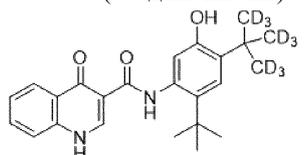
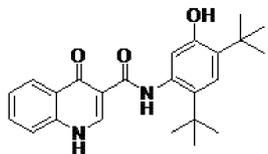
1. Способ лечения муковисцидоза, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом (A) от 10 мг до 900 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I



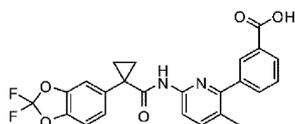
и его фармацевтически приемлемых солей ежедневно; и (B) по меньшей мере одного соединения, выбранного из (i) соединения II



(ii) соединения III или соединения III-d



(iii) соединения IV



и фармацевтически приемлемых солей любого из вышеперечисленного.





тически приемлемых солей; или (ii) один раз в сутки в единичной дозе вводят по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей.

41. Способ по любому из вариантов реализации 1, 2, 4, 5, и 32-38, в котором (i) в двух дозах ежедневно вводят дозу по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей; или (ii) в двух дозах ежедневно вводят дозу по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей.

42. Способ по любому из вариантов реализации 1, 3, 4 и 5, в котором ежедневно вводят от 100 мг до 1000 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей.

43. Способ по любому из вариантов реализации 1, 3, 4 и 5, в котором ежедневно вводят от 400 мг до 1000 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей.

44. Способ по любому из вариантов реализации 1, 3, 4 и 5, в котором ежедневно вводят 800 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей.

45. Способ по любому из вариантов реализации 1, 3, 4, 5 и 41-44, в котором дважды в день вводят 400 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей.

46. Способ по любому из вариантов реализации 1, 3, 4, 5 и 41-44, в котором в одной или двух дозах ежедневно вводят дозу по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей.

47. Способ по варианту реализации 1, в котором указанный пациент с муковисцидозом, выбран из пациентов с генотипами F508del/минимальная функция, пациентов с генотипами F508del/F508del, пациентов с генотипами F508del/гейтинг и пациентов с генотипами F508del/остаточная функция.

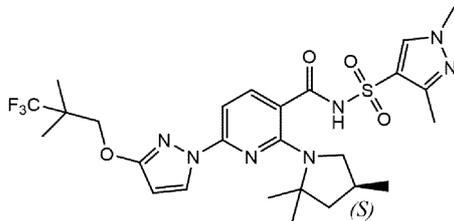
48. Способ по варианту реализации 1, в котором от 40 мг до 600 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, вводят ежедневно.

49. Способ по варианту реализации 1, в котором: (i) ежедневно вводят от 50 мг до 200 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей; и/или ежедневно вводят от 100 до 225 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III-d, и его фармацевтически приемлемых солей; или (ii) ежедневно вводят от 50 до 200 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей; и/или от ежедневно вводят от 150 до 600 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей.

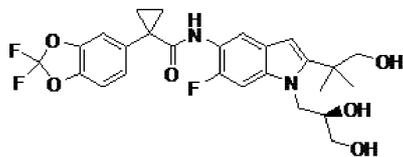
50. Способ по варианту реализации 1, 48 и 49, в котором: (i) ежедневно вводят от 100 мг до 225 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей, и/или ежедневно вводят от 400 мг до 1000 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей; (ii) ежедневно вводят от 150 мг до 250 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей, и/или ежедневно вводят от 400 мг до 1000 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей.

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

(A) от 10 мг до 900 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I



и его фармацевтически приемлемых солей, и  
(B) по меньшей мере одно соединение, выбранное из  
(i) соединения II

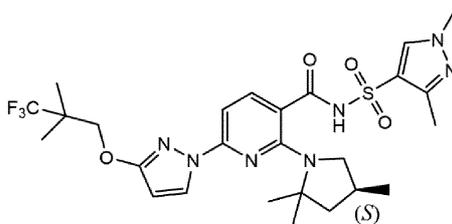


(ii) соединения III или соединения III-d



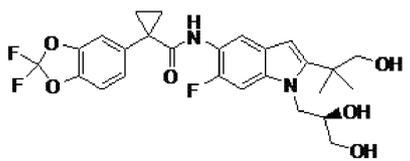




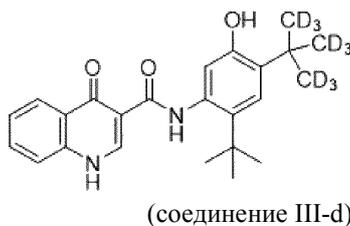
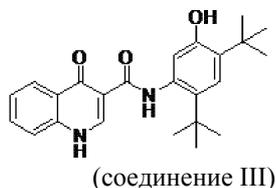


и его фармацевтически приемлемых солей и фармацевтически приемлемый носитель, причем указанную первую фармацевтическую композицию вводят ежедневно; и

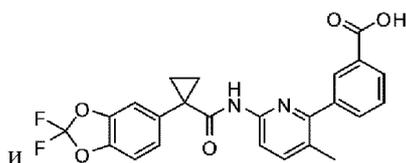
(B) второй фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение, выбранное из (i) соединения II



(ii) соединения III или соединения III-d



и (iii) соединения IV



фармацевтически приемлемые соли любого из вышеперечисленных и фармацевтически приемлемый носитель.

94. Способ по варианту реализации 93, в котором: (i) первая фармацевтическая композиция содержит, по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, и вторая фармацевтическая композиция содержит по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей, и, по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей; или (ii) первая фармацевтическая композиция содержит, по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, и вторая фармацевтически приемлемая композиция содержит по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей, и по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей.

95. Способ по варианту реализации 93, в котором первая фармацевтическая композиция содержит: по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, и вторая фармацевтическая композиция содержит по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей, и, по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей.

96. Способ по варианту реализации 93, в котором (i) первая фармацевтическая композиция содержит: по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, и вторая фармацевтическая композиция содержит по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей, и, по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей; или (ii) первая фармацевтическая композиция содержит, по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, и вторая фармацевтически приемлемая композиция содержит: по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей, и по





тически приемлемых солей.

135. Способ по любому из вариантов реализации 93 и 95-97, в котором ежедневно вводят от 400 мг до 1000 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей.

136. Способ по любому из вариантов реализации 93 и 95-97, в котором ежедневно вводят от 400 мг до 800 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей.

137. Способ по любому из вариантов реализации 93, 95-97 и 133-136, в котором один раз в сутки вводят 800 мг на дозу по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей.

138. Способ по любому из вариантов реализации 93, 95-97 и 133-136, в котором два раза в сутки вводят 400 мг на дозу по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей.

139. Способ по варианту реализации 93, в котором указанный пациент с муковисцидозом, выбран из пациентов с генотипами F508del/минимальная функция, пациентов с генотипами F508del/F508del, пациентов с генотипами F508del/гейтинг и пациентов с генотипами F508del/остаточная функция.

140. Способ по варианту реализации 93, в котором указанную первую фармацевтическую композицию, содержащую от 50 мг до 600 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, вводят ежедневно.

141. Способ по варианту реализации 93, в котором (i) ежедневно вводят от 50 мг до 200 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей, и/или ежедневно вводят от 150 мг до 600 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III, и его фармацевтически приемлемых солей; или (ii) ежедневно вводят от 50 мг до 200 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей, и/или от ежедневно вводят от 100 мг до 225 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей.

142. Способ по варианту реализации 93, 140 и 141, в котором (i) ежедневно вводят от 150 мг до 600 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей, и/или ежедневно вводят от 400 мг до 1000 мг по меньшей мере, одного соединения, выбранного из соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей; или (ii) ежедневно вводят от 100 до 225 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей, и/или ежедневно вводят от 400 мг до 1000 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей.

143. Способ по любому из вариантов реализации 93-142, в котором указанную вторую фармацевтическую композицию вводят до, после или одновременно с указанной первой фармацевтической композицией.

144. Способ по любому из вариантов реализации 93-143, дополнительно включающий введение указанному пациенту третьей фармацевтической композиции, причем указанная композиция содержит (i) по меньшей мере, одно соединение, выбранное из соединения II, соединения III, соединения IV и их фармацевтически приемлемых солей; или (ii) по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения II, соединения III-d, соединения IV и их фармацевтически приемлемых солей.

145. Способ по варианту реализации 144, причем указанную третью фармацевтическую композицию вводят один раз в сутки.

146. Способ по любому из вариантов реализации 1, 51 и 93, включающий введение указанному пациенту соединения I.

147. Способ по любому из вариантов реализации 1, 51 и 93, включающий введение указанному пациенту фармацевтически приемлемой соли соединения I.

148. Способ по любому из вариантов реализации 1, 51 и 93, включающий введение указанному пациенту соединения II.

149. Способ по любому из вариантов реализации 1, 51 и 93, включающий введение указанному пациенту фармацевтически приемлемой соли соединения II.

150. Способ по любому из вариантов реализации 1, 51 и 93, включающий введение указанному пациенту соединения III или соединения III-d.

151. Способ по любому из вариантов реализации 1, 51 и 93, включающий введение указанному пациенту фармацевтически приемлемой соли соединения III или фармацевтически приемлемой соли соединения III-d.

152. Способ по любому из вариантов реализации 1, 51 и 93, включающий введение указанному пациенту соединения IV.

153. Способ по любому из вариантов реализации 1, 51 и 93, включающий введение указанному пациенту фармацевтически приемлемой соли соединения IV.

154. Способ по любому из вариантов реализации 1, 51 и 93, включающий введение указанному пациенту фармацевтически приемлемой соли соединения I, соединения II и соединения III-d.

155. Способ по любому из вариантов реализации 1, 51 и 93, включающий введение указанному пациенту (i) соединения I, соединения II и соединения III; или (ii) соединения I, соединения II и соединения III-d.

156. Способ по любому из вариантов реализации 1, 51 и 93, включающий введение указанному пациенту (i) соединения I и соединения III; или (ii) соединения I и соединения III-d.

157. Способ по любому из вариантов реализации 1, 51 и 93, включающий введение указанному пациенту (i) фармацевтически приемлемой соли соединения I, и соединения III; или (ii) фармацевтически приемлемой соли соединения I и соединения III-d.

158. Способ по любому из вариантов реализации 47, 89 или 139, в котором пациент с генотипом F508del/минимальная функция имеет минимальную функциональную мутацию, выбранную из следующего.

Мутация				
S4X	C276X	G542X	R792X	E1104X
G27X	Q290X	G550X	E822X	R1158X
Q39X	G330X	Q552X	W846X	R1162X
W57X	W401X	R553X	Y849X	S1196X
E60X	Q414X	E585X	R851X	W1204X
R75X	S434X	G673X	Q890X	L1254X
E92X	S466X	Q685X	S912X	S1255X
Q98X	S489X	R709X	Y913X	W1282X
Y122X	Q493X	K710X	W1089X	Q1313X
E193X	W496X	L732X	Y1092X	E1371X
L218X	C524X	R764X	W1098X	Q1382X
Q220X	Q525X	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
405+1G→A	1248+1G→A	1811+1G→C	3040G→C	3600+2insT
405+3A→C	1249-1G→A	1811+1.6kbA→G	(G970R)	3850-1G→A
406-1G→A	1341+1G→A	1812-1G→A	3120G→A	4005+1G→A
621+1G→T	1525-2A→G	1898+1G→A	3120+1G→A	4374+1G→T
711+1G→T	1525-1G→A	1898+1G→C	3121-2A→G	
182delT	1119delA	1782delA	2732insA	3876delA
306insA	1138insG	1824delA	2869insG	3878delG
365-366insT	1154insTC	2043delG	2896insAG	3905insT
394delTT	1161delC	2143delT	2942insT	4016insT
442delA	1213delT	2183AA→G	2957delT	4021dupT
444delA	1259insA	2184delA	3007delG	4040delA
457TAT→G	1288insTA	2184insA	3028delA	4279insA
541delC	1471delA	2307insA	3171delC	4326delTC
574delA	1497delGG	2347delG	3659delC	
663delT	1548delG	2585delT	3737delA	
935delA	1609delCA	2594delGT	3791delC	
1078delT	1677delTA	2711delT	3821delT	
CFTRdele2,3	1461ins4	2991del132		
CFTRdele22,23	1924del7	3667ins4		
124del123bp	2055del9→A	4010del14		
852del22	2105-	4209TGTT→AA		
991del5	2117del113insAGAAA			
	2721del11			
A46D	V520F	Y569D	N1303K	
G85E	A559T	L1065P		
R347P	R560T	R1066C		
L467F	R560S	L1077F		
I507del	A561E	M1101K		

159. Способ по любому из вариантов реализации 47, 89 или 139, в котором пациент с генотипом F508del/рейтинг имеет минимальную функциональную мутацию, выбранную из G178R, S549N, S549R, G551D, G551S, G1244E, S1251N, S1255P и G1349D.

160. Способ по любому из вариантов реализации 47, 89 или 139, в котором пациент с генотипом F508del/остаточная функция имеет мутацию остаточной функции, выбранную из 2789+5GD→A, 3849+10kbC→T, 3272-26A→G, 711+3A→G, E56K, P67L, R74W, D110E, D110H, R117C, L206W, R347H, R352Q, A455E, D579G, E831X, S945L, S977F, F1052V, R1070W, F1074L, D1152H, D1270N, E193K, K1060T, R117H, S1235R, I1027T, R668C, G576A, M470V, L997F, R75Q, R1070Q, R31C, D614G, G1069R, R1162L, E56K, A1067T, E193K и K1060T.

161. Способ по любому из вариантов реализации 51 или 93, в котором фармацевтически приемлемый носитель представляет собой НРМСАС-НГ.

162. Способ по любому из вариантов реализации 1-5, 25-47, 49, 50, 51-55, 73-89, 91, 92, 93-97, 117-139 и 140-161, причем ежедневно вводят 20 мг, 50 мг, 60 мг, 100 мг, 120 мг, 200 мг, 240 мг, 250 мг, 300 мг, 350 мг, 400 мг, 450 мг, 480 мг, 500 мг, 550 мг, 600 мг или 800 мг по меньшей мере, одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей.

163. Способ по любому из вариантов реализации 1, 47, 51, 89, 93, 139 и 158-161, в котором указанному пациенту вводят (i) 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 и его фармацевтически приемлемых солей, и при этом вводят от 50 мг до 600 мг, по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей ежедневно; вводят от 50 мг до 200 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II, и его фармацевтически приемлемых солей, вводят ежедневно; и вводят от 150 мг до 600 мг соединения III ежедневно; или (ii) 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-d и его фармацевтически приемлемых солей, и при этом вводят от 50 мг до 600 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей ежедневно; вводят от 50 до 200 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II, и его фармацевтически приемлемых солей ежедневно; и вводят от 100 мг до 200 мг соединения III-d ежедневно.

164. Способ по любому из вариантов реализации 1, 47, 51, 89, 93, 139 и 158-161, в котором указанному пациенту вводят (i) по меньшей мере, одно соединение, выбранное из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, и, по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей, и при этом вводят от 50 мг до 600 мг, по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, вводят ежедневно; и вводят от 150 мг до 600 мг соединения III ежедневно; или (ii) по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, и по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей, и при этом вводят от 50 мг до 600 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I, и его фармацевтически приемлемых солей ежедневно; и вводят от 100 мг до 200 мг соединения III-d ежедневно.

165. Способ по любому из вариантов реализации 1, 47, 51, 89, 93, 139 и 158-161, в котором указанному пациенту вводят (A) (i) от 50 мг до 600 мг один раз в день по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, (ii) 100 мг один раз в день по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей или 50 мг два раза в день по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей, и (iii) 150 мг один раз в день по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей; или (B) (i) 200 мг один раз в день по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, (ii) 100 мг на дозу один раз в день или 50 мг на дозу два раза в день по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей, и (iii) 150 мг на дозу один раз в день по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей.

166. Способ по любому из вариантов реализации 1, 47, 51, 89, 93, 139 и 158-161, в котором указанному пациенту вводят (i) по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, и по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей, и причем от 50 мг до 600 мг по меньшей мере одно соединение, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей на дозу вводят один раз в день; и 150 мг или 300 мг по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей на дозу вводят два раза в день; или (ii) по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, и по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей, и причем от 50 мг до 600 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей на дозу вводят один раз в день; и 150 мг или 300 мг по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей на дозу вводят один раз в день.



в день; или (ii) по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, и по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей, причем 50 мг, 80 мг, 100 мг, 150 мг, 160 мг, 200 мг, 240 мг, 250 мг, 300 мг или 320 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей на дозу вводят два раза в день; и 150 мг соединения III-d на дозу вводят один раз в день.

171. Способ по любому из вариантов реализации 162-170, включающий введение указанному пациенту соединения I.

172. Способ по любому из вариантов реализации 162-170, включающий введение указанному пациенту фармацевтически приемлемой соли соединения I.

173. Способ по варианту реализации 171 или 172, включающий введение указанному пациенту соединения III-d.

174. Способ по любому из вариантов реализации 163, 165, 167, 169, включающий введение указанному пациенту соединения II.

175. Способ по любому из вариантов реализации 163, 165, 167, 169, включающий введение указанному пациенту (i) соединения I, соединения II и соединения III; или (ii) соединения I, соединения II и соединения III-d.

176. Способ по любому из вариантов реализации 1-175, дополнительно включающий введение по меньшей мере одного дополнительного активного фармацевтического ингредиента.

177. Способ по любому из вариантов реализации 1-175, в котором по меньшей мере одно из соединения I, соединения II и соединения III мечено изотопом.

178. Способ по варианту реализации 177, в котором по меньшей мере один из атомов водорода по меньшей мере в одном из соединения I, соединении II, соединении III и соединении III-d заменен на дейтерий.

179. Способ по любому из вариантов реализации 1-50, в котором указанное по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, включено в первую фармацевтическую композицию, причем указанное по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей, включено во вторую фармацевтическую композицию и указанное по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей, или образующее соединение III-d и его фармацевтически приемлемые соли включены в третью фармацевтическую композицию.

180. Способ по любому из вариантов реализации 1-50, в котором (i) указанное по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей включено в первую фармацевтическую композицию и указанное по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей, и указанное по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей содержатся во второй фармацевтической композиции; или (ii) указанное по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей включено в первую фармацевтическую композицию, и указанное по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей, и указанное по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей содержатся во второй фармацевтической композиции.

181. Способ по варианту реализации 180, в котором (i) указанная вторая фармацевтическая композиция содержит одну половину суточной дозы указанного по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей, и другую половину суточной дозы указанного по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей, вводят указанному пациенту в третьей фармацевтической композиции; или (ii) указанная вторая фармацевтическая композиция содержит одну половину суточной дозы указанного по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей, и другую половину суточной дозы указанного по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей вводят указанному пациенту в третьей фармацевтической композиции.

182. Способ по любому из вариантов реализации 1-50, в котором (i) указанное по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей включено в первую фармацевтическую композицию, причем указанное по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей содержится во второй фармацевтической композиции и указанное по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей содержится в первой фармацевтической композиции; или (ii) указанное по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей включено в первую фармацевтическую композицию, причем указанное по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей содержится во второй фармацевтической композиции и указанное по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей содержится в первой фармацевтической композиции.

183. Способ по варианту реализации 182, в котором первую фармацевтическую композицию вводят пациенту два раза в день.

184. Способ по любому из вариантов реализации 1-50 и 51-178, в котором (i) соединение I, соединение II и соединение III вводят указанному пациенту, и причем соединение I, соединение II и соединение III содержатся в первой фармацевтической композиции; или (ii) соединение I, соединение II и соединение III-d вводят указанному пациенту, и причем соединение I, соединение II и соединение III-d содержатся в первой фармацевтической композиции.

185. Способ по варианту реализации 184, в котором первую фармацевтическую композицию вводят пациенту два раза в день.

186. Способ по любому из воплощений 1-50 и 51-178, в котором (i) соединение I, соединение II и соединение III вводят указанному пациенту, и где соединение I содержится в первой фармацевтической композиции, соединение II содержится во второй фармацевтической композиции, а соединение III содержится в третьей фармацевтической композиции; или (ii) соединение I, соединение II и соединение III-d вводят указанному пациенту, и где соединение I содержится в первой фармацевтической композиции, соединение II содержится во второй фармацевтической композиции, и соединение III-d содержится в третьей фармацевтической композиции.

187. Способ по любому из вариантов реализации 1-50 и 51-178, в котором (i) соединение I, соединение II и соединение III вводят указанному пациенту, и причем соединение I включено в первую фармацевтическую композицию и соединение II и соединение III содержатся во второй фармацевтической композиции; или (ii) соединение I, соединение II и соединение III-d вводят указанному пациенту, и причем соединение I включено в первую фармацевтическую композицию, и соединение II, и соединение III-d содержатся во второй фармацевтической композиции.

188. Способ по варианту реализации 187, в котором (i) указанная вторая фармацевтическая композиция содержит половину суточной дозы соединения III и другую половину суточной дозы соединения III вводят указанному пациенту в третьей фармацевтической композиции; или (ii) указанная вторая фармацевтическая композиция содержит половину суточной дозы соединения III-d и другую половину суточной дозы соединения III-d вводят указанному пациенту в третьей фармацевтической композиции.

189. Способ по любому из воплощений 1-50 и 51-178, в котором (i) соединение I, соединение II и соединение III вводят указанному пациенту, и где соединение I содержится в первой фармацевтической композиции, соединение II содержится во второй фармацевтической композиции, а соединение III содержится в первой фармацевтической композиции; или (ii) соединение I, соединение II и соединение III-d вводят указанному пациенту, и где соединение I содержится в первой фармацевтической композиции, соединение II содержится во второй фармацевтической композиции, и соединение III-d содержится в первой фармацевтической композиции.

190. Способ по варианту реализации 189, в котором первую фармацевтическую композицию вводят пациенту два раза в день.

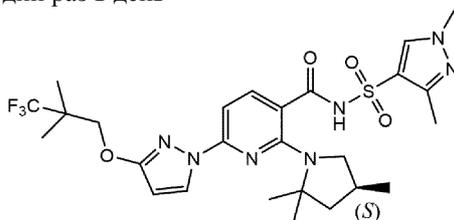
191. Способ по любому из вариантов реализации 1-50 и 51-178, в котором (i) соединение I, соединение II и соединение III вводят указанному пациенту, и причем соединение I, соединение II и соединение III содержатся в первой фармацевтической композиции; или (ii) соединение I, соединение II и соединение III-d вводят указанному пациенту, и причем соединение I, соединение II и соединение III-d содержатся в первой фармацевтической композиции.

192. Способ по варианту реализации 191, в котором первую фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в день.

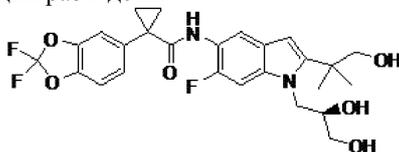
193. Способ лечения муковисцидоза, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом:

(a)

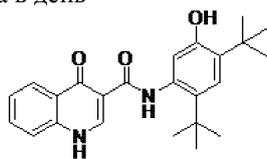
(A) 200 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей на дозу один раз в день



и (B) 100 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей на дозу один раз в день



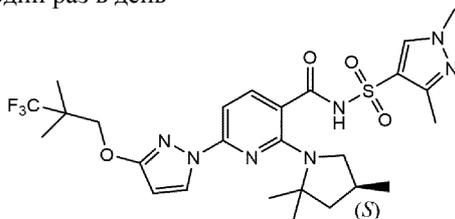
и (C) 150 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей на дозу два раза в день



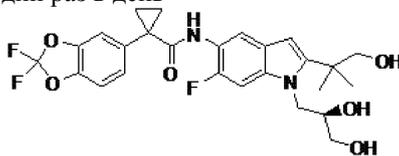
(соединение III);

или (b)

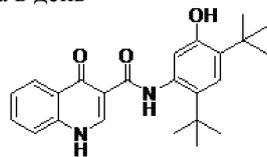
(A) 100 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей на дозу один раз в день



и (B) 100 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей на дозу один раз в день



и (C) 150 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей на дозу два раза в день

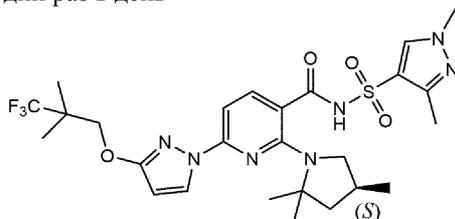


(соединение III).

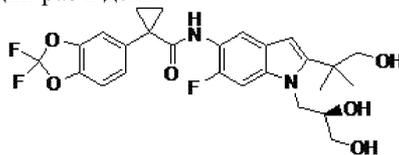
194. Способ лечения муковисцидоза, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом:

(a)

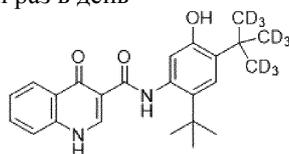
(A) 200 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей на дозу один раз в день



и (B) 100 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей на дозу один раз в день



и (C) 150 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей на дозу один раз в день

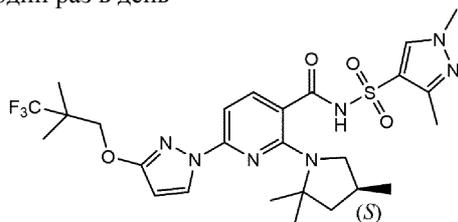


(соединение III-d);

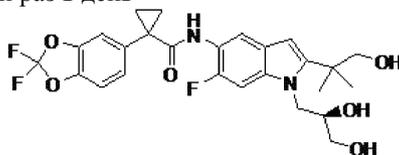
или (b)

(A) 100 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически

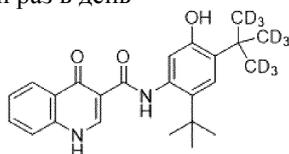
ски приемлемых солей на дозу один раз в день



(B) 100 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей на дозу один раз в день



и (C) 150 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей на дозу один раз в день

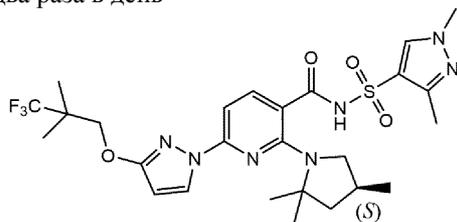


(соединения III-d).

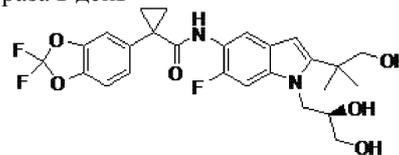
195. Способ лечения муковисцидоза, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом:

(a)

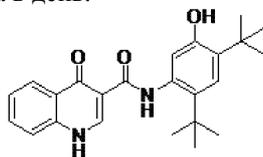
(A) 100 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей на дозу два раза в день



и (B) 50 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей на дозу два раза в день



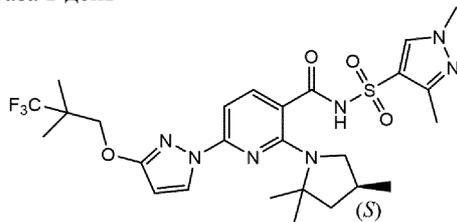
и (C) 150 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей на дозу два раза в день:



(соединение III);

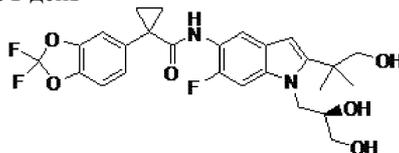
или (b)

(A) 50 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей на дозу два раза в день

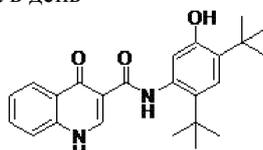


(B) 50 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически

приемлемых солей на дозу два раза в день



и (С) 150 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей на дозу два раза в день



(соединение III).

196. Способ по варианту реализации 193 или 194, или 195, в котором указанный пациент, имеющий муковисцидоз, выбранный из пациентов с генотипами F508del/минимальной функции, пациентов с генотипами F508del/F508del, пациентов с генотипами F508del/гейтирование и пациентов с генотипами F508del/остаточной функции.

197. Способ по варианту реализации 196, в котором пациент с генотипом F508del/минимальной функции имеет мутацию минимальной функции, выбранную из следующего:

мутация				
S4X	C276X	G542X	R792X	E1104X
G27X	Q290X	G550X	E822X	R1158X
Q39X	G330X	Q552X	W846X	R1162X
W57X	W401X	R553X	Y849X	S1196X
E60X	Q414X	E585X	R851X	W1204X
R75X	S434X	G673X	Q890X	L1254X
E92X	S466X	Q685X	S912X	S1255X
Q98X	S489X	R709X	Y913X	W1282X
Y122X	Q493X	K710X	W1089X	Q1313X
E193X	W496X	L732X	Y1092X	E1371X
L218X	C524X	R764X	W1098X	Q1382X
Q220X	Q525X	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
405+1G→A	1248+1G→A	1811+1G→C	3040G→C	3600+2msT
405+3A→C	1249-1G→A	1811+1 6kbA→G	(G970R)	3850-1G→A
406-1G→A	1341+1G→A	1812-1G→A	3120G→A	4005+1G→A
621+1G→T	1525-2A→G	1898+1G→A	3120+1G→A	4374+1G→T
711+1G→T	1525-1G→A	1898+1G→C	3121-2A→G	
182delT	1119delA	1782delA	2732msA	3876delA
306msA	1138msG	1824delA	2869msG	3878delG
365-366msT	1154msTC	2043delG	2896msAG	3905msT
394delTT	1161delC	2143delT	2942msT	4016msT
442delA	1213delT	2183AA→G'	2957delT	4021dupT
444delA	1259msA	2184delA	3007delG	4040delA
457TAT→G	1288msTA	2184msA	3028delA	4279msA
541delC	1471delA	2307msA	3171delC	4326delTC
574delA	1497delGG	2347delG	3659delC	
663delT	1548delG	2585delT	3737delA	
935delA	1609del CA	2594delGT	3791delC	
1078delT	1677delTA	2711delT	3821delT	
CFTRdele2,3	1461ms4	2991del32		
CFTRdele22,23	1924del7	3667ms4		
124del23bp	2055del9→A	4010del4		
852del22	2105-	4209TGTT→AA		
	2117del13msAGAAA			
991del5	2721del11			

Mutation			
A46D <sup>1</sup>	V520F	Y569D <sup>1</sup>	N1303K
G85E	A559T <sup>1</sup>	L1065P	
R347P	R560T	R1066C	
L467P <sup>1</sup>	R560S	L1077P <sup>1</sup>	
I507del	A561E	M1101K	

или

мутация				
Q2X	L218X	Q525X	R792X	E1104X
S4X	Q220X	G542X	E822X	W1145X
мутация				
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 (G970R)	3600+2insT
405+1G→ A	1249- 1G→A	1811+1,6kba →G		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
306delTA GA	1138insG	1824delA	2869insG	3821delT
365- 366insT	1154insTC	1833delT	2896insAG	3876delA

394delTT	1161delC	2043delG	2942insT	3878delG
442delA	1213delT	2143delT	2957delT	3905insT
444delA	1259insA	2183AA→G <sub>a</sub>	3007delG	4016insT
457TAT→G	1288insT A	2184delA	3028delA	4021dupT
541delC	1343delG	2184insA	3171delC	4022insT
574delA	1471delA	2307insA	3171insC	4040delA
663delT	1497delG G	2347delG	3271delGG	4279insA
849delG	1548delG	2585delT	3349insT	4326delTC
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	3121-977_3499+248del2515		
CFTRdup6b-10	124del23bp	3667ins4		
CFTRdele11	602del14	4010del4		
CFTRdele13,14a	852del22	4209TGTT→AA		
CFTRdele14b-17b	991del5			
A46D <sup>b</sup>	V520F	Y569D <sup>b</sup>	N1303K	
G85E	A559T <sup>b</sup>	L1065P		
R347P	R560T	R1066C		
L467P <sup>b</sup>	R560S	L1077P <sup>b</sup>		
I507del	A561E	M1101K		

<sup>a</sup> также известна как 2183delAA→G

198. Способ по варианту реализации 196, в котором пациент с генотипом F508del/гейтирование имеет стробирующую мутацию, выбранную из G178R, S549N, S549R, G551D, G551S, G1244E, S1251N, S1255P и G11349D.

199. Способ по варианту реализации 196, в котором пациент с генотипом F508del/ остаточная функция имеет мутацию остаточной функции, выбранную из 2789+5GD→A, 3849+10kbC→T, 3272-26A→Г, 711+3A→Г, E56K, P67L, R74W, D110E, D110H, R117C, L206W, R347H, R352Q, A455E, D579G, E831X, S945L, S977F, F1052V, R1070W, F1074L, D1152H, D1270N, E193K, K1060T, R117H, S1235R, P1027T, R668C, G576A, M470V, L997F, R75Q, R1070Q, R31C, D614G, G1069R, R1162L, E56K, A1067T, E193K и K1060T.

200. Способ по варианту реализации 1-199, в котором абсолютное изменение в процентах прогнозируемого объема форсированного выдоха за одну секунду (ppFEV1) после 29 дней введения указанного по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей, и по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III или III-d, и его фармацевтически приемлемых солей в диапазоне от 3% до 40% относительно ppFEV1 пациента до указанного введения.

201. Способ по любому из вариантов реализации 1-200, в котором указанное абсолютное изменение ppFEV1 указанного пациента составляет от 3 до 35%.

## Примеры

## I. Способы получения соединений.

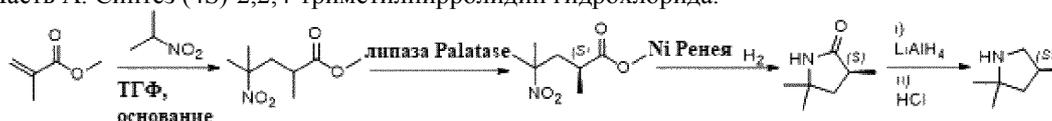
## Общие методики эксперимента

Реагенты и исходные материалы получали от коммерческих источников, если не указано иное, и использовались без очистки. Спектры протонного и углеродного ЯМР получали на любом спектрометре Bruker Biospin DRX 400 МГц FTNMR, работающем при резонансной частоте  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  400 и 100 МГц соответственно, или на ЯМР-спектрометре 300 МГц. Одномерные протонные и углеродные спектры были получены с использованием широкополосного зонда (BBFO) с вращением образца 20 Гц при цифровом разрешении 0,1834 и 0,9083 Гц/Pt соответственно. Протонные и углеродные спектры были получены с контролем температуры при 30°C или при температуре окружающей среды с использованием стандартных, ранее опубликованных последовательностей импульсов и рутинных параметров обработки. Конечную чистоту соединений определяли с помощью обращенно-фазовой СВЭЖХ с использованием колонки Acquity UPLC BEH  $\text{C}_{18}$  (50×2,1 мм, 1,7 мкм частицы), изготовленной Waters (pn: 186002350), и двойного градиента от 1-99% подвижной фазы В в течение 3,0 минуты. Подвижная фаза А=H<sub>2</sub>O (0,05% CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H). Подвижная фаза В=CH<sub>3</sub>CN (0,035% CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H). Скорость потока=1,2 мл/мин, объем введенной пробы=1,5 мкл и температура колонки=60 °С. Конечную чистоту рассчитывали путем усреднения площади под кривой (AUC) двух УФ-следов (220 нм, 254 нм). Масс-спектры низкого разрешения были получены с использованием одного квадрупольного масс-спектрометра с точностью 0,1 Да и минимальным разрешением 1000 ампер в диапазоне детектирования с использованием электрораспылительной ионизации (ЭСИ) с использованием иона водорода (H<sup>+</sup>). Оптическую чистоту метил (2S)-2,4-диметил-4-нитропентаноата определяли с использованием анализа хиральной газовой хроматографии (ГХ) на приборе Agilent 7890A/MSD 5975C, используя Restek Rt-pDEXcst (30 м×0,25 мм×0,25μm\_df), со скоростью потока 2,0 мл/мин (газ-носитель H<sub>2</sub>), при температуре впрыска 220°C и температуре в печи 120°C, 15 минуты.

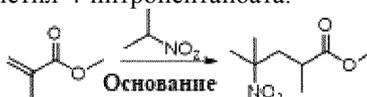
Соединения I, II, III и III-d могут быть получены любым подходящим способом в данной области техники, например, как указано в публикациях PCT № WO 2011/133751 и WO 2015/160787 и патенте США № 8865902.

## 2. Пример 1. Синтез соединения I.

Часть А. Синтез (4S)-2,2,4-триметилпирролидин гидрохлорида.



Стадия 1. Синтез метил-2,4-диметил-4-нитропентаноата.



Тетрагидрофуран (ТГФ, 4,5 л) добавляли в стеклянный реактор на 20 л и перемешивали в атмосфере N<sub>2</sub> при комнатной температуре. 2-Нитропропан (1,5 кг, 16,83 моль) и 1,8-дизабицикло[5,4,0]ундец-7-ен (DBU) (1,282 кг, 8,42 моль), затем помещали в реактор и температуру рубашки повышали до 50°C. Как только температура содержимого реактора достигала 50°C, метилметакрилат (1,854 кг, 18,52 моль) медленно добавляли в течение 100 минуты. Температуру реакции поддерживали на уровне или близко к 50°C в течение 21 ч. Реакционную смесь упаривали в вакууме, затем переносили обратно в реактор и разбавляли метил-трет-бутиловым эфиром (МТВЕ) (14 л). Добавляли 2 М HCl (7,5 л) и данную смесь перемешивали в течение 5 минут, затем давали отстояться. Были видны два прозрачных слоя - нижняя желтая водная фаза и верхняя зеленая органическая фаза. Водный слой удаляли и органический слой снова перемешивали с 2 М HCl (3 л). После разделения промывные растворы HCl рекомбинировали и перемешивали с МТВЕ (3 л) в течение 5 минуты. Водный слой удаляли, и все органические слои объединяли в реакторе и перемешивали с водой (3 л) в течение 5 минуты. После разделения органические слои упаривали в вакууме, получая мутное зеленое масло. Неочищенный продукт обрабатывали MgSO<sub>4</sub> и фильтровали, получая метил-2,4-диметил-4-нитропентаноат в виде прозрачного зеленого масла (3,16 кг, выход 99%). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, Хлороформ-d) δ 3,68 (с, 3H), 2,56-2,35 (м, 2H), 2,11-2,00 (м, 1H), 1,57 (с, 3H), 1,55 (с, 3H), 1,19 (д, J=6,8 Гц, 3H).

Стадия 2. Синтез метил (2S)-2,4-диметил-4-нитропентаноата.

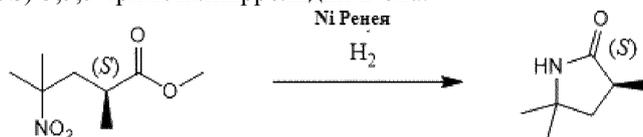


В реактор переносили очищенную воду (2090 л; 10 об.), а затем дигидрофосфат калия (27 кг, 198,4 моль; 13 г/л для загрузки воды). pH содержимого реактора доводили до 6,5 (±0,2) с помощью 20% (мас./об.) раствора карбоната калия. В реактор загружали рацемический метил-2,4-диметил-4-

нитропентаноат (209 кг; 1104,6 моль) и липазу Palatase 20000L (13 л, 15,8 кг; 0,06 об.).

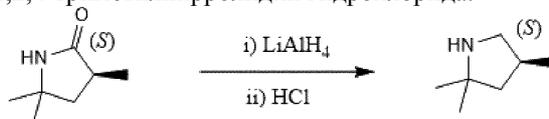
Температуру реакционной смеси доводили до  $32 \pm 2^\circ\text{C}$  и перемешивали в течение 15-21 ч, и поддерживали pH 6,5, используя pH-стат с автоматическим добавлением 20% раствора карбоната калия. Когда рацемический исходное вещество было превращено в  $>98\%$  ее S-энантиомера, как определено хиральной ГХ, внешний нагрев отключали. Затем в реактор загружали МТВЕ (35 л; 5 об.) и водный слой экстрагировали МТВЭ (3 раза, 400-1000 л). Объединенные органические экстракты промывали водным  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (4 раза, 522 л, 18% мас./мас. 2,5 об.), водой (523 л, 2,5 об.) и 10% водным  $\text{NaCl}$  (314 л, 1,5 об.). Органический слой упаривали в вакууме, получая метил (2S)-2,4-диметил-4-нитропентаноат в виде подвижного желтого масла ( $>98\%$  ее, 94,4 кг; выход 45%).

Стадия 3. Синтез (3S)-3,5,5-триметилпирролидин-2-она.



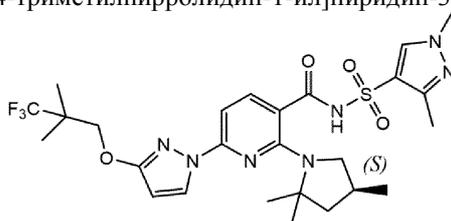
Реактор объемом 20 л продували  $\text{N}_2$ . В сосуд последовательно добавляли DI, промытый водой, влажный Raney® Ni (марка 2800, 250 г), метил (2S)-2,4-диметил-4-нитропентаноат (1741 г, 9,2 моль) и этанол (13,9 л, 8 об.) Реакционную смесь перемешивали при 900 об/мин, а реактор продували  $\text{H}_2$  и поддерживали при  $\sim 2,5$  бар. Реакционную смесь затем нагревали до  $60^\circ\text{C}$  в течение 5 ч. Реакционную смесь охлаждали и фильтровали для удаления никеля Ренея, а твердый осадок промывали этанолом (3,5 л, 2 об.). Этанольный раствор продукта объединяли со второй порцией равного размера и упаривали в вакууме для уменьшения до минимального объема этанола ( $\sim 1,5$  объема). Добавляли гептан (2,5 л) и суспензию снова упаривали до  $\sim 1,5$  объема. Данную процедуру повторили 3 раза; полученную суспензию охлаждали до  $0-5^\circ\text{C}$ , фильтровали под вакуумом и промывали гептаном (2,5 л). Продукт сушили в вакууме в течение 20 минут, затем переносили в сушильные лотки и сушили в вакуумной печи при  $40^\circ\text{C}$  в течение ночи, получая (3S)-3,5,5-триметилпирролидин-2-он в виде белого кристаллического твердого вещества (2,042 кг, 16,1 моль, 87%).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, Хлороформ-d)  $\delta$  6,39 (с, 1H), 2,62 (дд.кв., J=9,9, 8,6, 7,1 Гц, 1H), 2,17 (дд, J=12,4, 8,6 Гц, 1H), 1,56 (дд, J=12,5, 9,9 Гц, 1H), 1,31 (с, 3H), 1,25 (с, 3H), 1,20 (д, J=7,1 Гц, 3H).

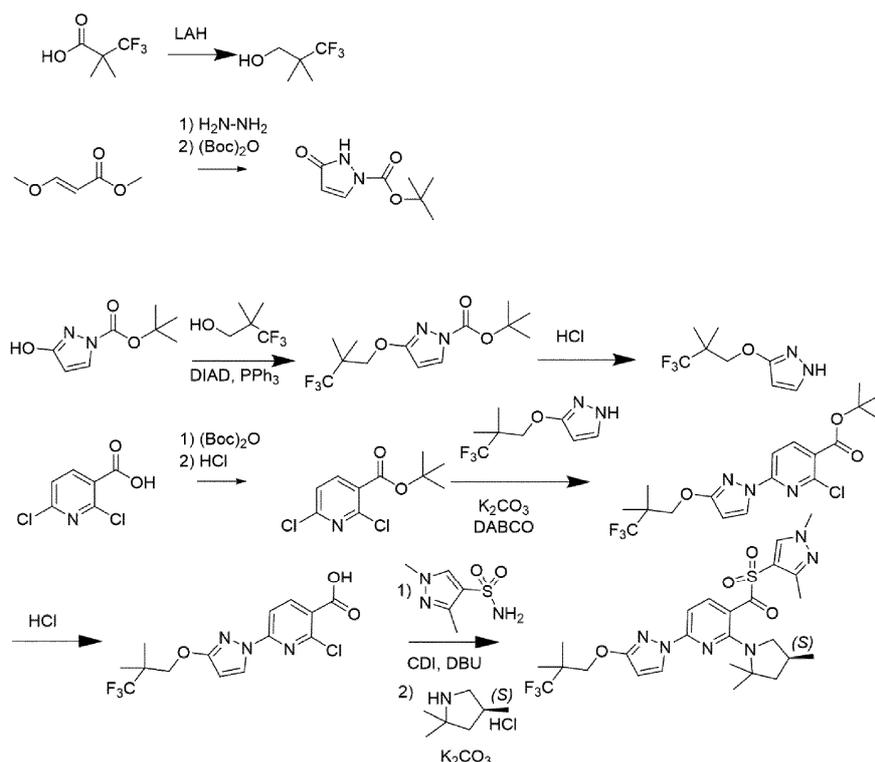
Стадия 4. Синтез (4S)-2,2,4-триметилпирролидин гидрохлорида.



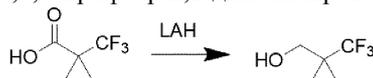
В 120-литровый эмалированный реактор переносили гранулы литийалюминийгидрида (2,5 кг, 66 моль) и сухой ТГФ (60 л), и нагревали до  $30^\circ\text{C}$ . В полученную суспензию добавляли (S)-3,5,5-триметилпирролидин-2-он (7,0 кг, 54 моль) в ТГФ (25 л) в течение 2 ч, поддерживая температуру реакции от 30 до  $40^\circ\text{C}$ . После завершения добавления температуру реакции повышали до  $60-63^\circ\text{C}$  и поддерживали в течение ночи. Реакционную смесь охлаждают до  $22^\circ\text{C}$ , затем осторожно вливали этилацетат ( $\text{EtOAc}$ ) (1,0 л, 10 моль), затем смесь ТГФ (3,4 л) и воды (2,5 кг, 2,0 экв.), а затем смесь воду (1,75 кг) с 50% водным гидроксидом натрия (750 г, 2 экв. воды с 1,4 экв. гидроксида натрия по отношению к алюминию) с последующим добавлением 7,5 л воды. После завершения добавления реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, и твердое вещество удаляли фильтрованием и промывали ТГФ ( $3 \times 25$  л). Фильтрат и промывные воды объединяли, и обрабатывали 5,0 л (58 моль) водной 37%-ной  $\text{HCl}$  (1,05 экв.), поддерживая температуру ниже  $30^\circ\text{C}$ . Полученный раствор упаривали вакуумной перегонкой до суспензии. Добавляли изопропанол (8 л) и раствор упаривали почти до сухого состояния путем вакуумной перегонки. Добавляли изопропанол (4 л) и продукт суспендировали нагреванием до около  $50^\circ\text{C}$ . Добавляли МТВЕ (6 л) и суспензию охлаждали до  $2-5^\circ\text{C}$ . Продукт отфильтровывали и промывали 12 л МТВЕ, и сушили в вакуумной печи ( $55^\circ\text{C}/300$  торр/выпуск  $\text{N}_2$ ), получая (4S)-2,2,4-триметилпирролидин- $\text{HCl}$  в виде белого кристаллического твердого вещества (6,21 кг, выход 75%).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  9,34 (уш. д., 2H), 3,33 (дд, J=11,4, 8,4 Гц, 1H), 2,75 (дд, J=11,4, 8,6 Гц, 1H), 2,50-2,39 (м, 1H), 1,97 (дд, J=12,7, 7,7 Гц, 1H), 1,42 (с, 3H), 1,38 (дд, J=12,8, 10,1 Гц, 1H), 1,31 (с, 3H), 1,05 (д, J=6,6 Гц, 3H).

Часть В. Получение N-(1,3-диметилпиразол-4-ил)сульфонил-6-[3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпрокси)пиразол-1-ил]-2-[(4S)-2,2,4-триметилпирролидин-1-ил]пиридин-3-карбоксамид (соединения I).



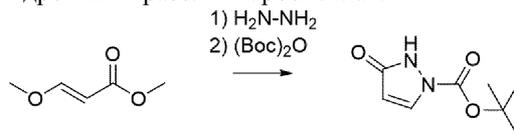


Получение исходных веществ. 3,3,3-Трифтор-2,2-диметилпропан-1-ол.



В круглодонную колбу объемом 1 л с 3 горлами была установлена механическая мешалка, охлаждающая баня, капельная воронка и датчик температуры J-Kem. В колбу переносили гранулы литийалюминийгидрида (ЛАГ) (6,3 г, 0,1665 моль) в атмосфере азота. Затем в колбу переносили тетрагидрофуран (200 мл) в атмосфере азота. Смеси давали перемешиваться при комнатной температуре в течение 0,5 ч для растворения гранул. Охлаждающую баню затем загружали колотым льдом в воде и температуру реакции понижали до 0°C. В капельную воронку переносили раствор 3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропановой кислоты (20 г, 0,1281 моль) в тетрагидрофуране (60 мл) и прозрачный бледно-желтый раствор добавляли по каплям в течение 1 ч. После завершения добавления смеси давали медленно нагреться до комнатной температуры и перемешивание продолжали в течение 24 ч. Суспензию охлаждали до 0°C с помощью охлаждающей бани с измельченным льдом в воде, а затем очень медленно и по каплям добавляли воду (6,3 мл), затем раствор гидроксида натрия (15 мас.%; 6,3 мл), и затем в конце воду (18,9 мл). Температуру реакции полученной белой суспензии регистрировали при 5°C. Суспензию перемешивали при ~5°C в течение 30 мин, а затем фильтровали через 20 мм слой целита. Осадок на фильтре промывали тетрагидрофураном (2×100 мл). Фильтрат сушили над сульфатом натрия (150 г), а затем фильтровали. Фильтрат упаривали при пониженном давлении с получением прозрачного бесцветного масла (15 г), содержащее смесь продукта 3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропан-1-ола в ТГФ (73% по массе продукта ~10,95 г и 27 мас.% ТГФ, как определено с помощью Ш-ЯМР). Дистиллят из роторного испарителя подвергали дистилляции при атмосферном давлении с использованием 30 см колонки Vigreux с получением 8,75 г остатка, содержащего 60 мас.% ТГФ и 40 мас.% продукта (~3,5 г). Расчетное общее количество продукта составляет 14,45 г (выход 79%). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 4,99 (т, J=5,7 Гц, 1H), 3,38 (дд, J=5,8, 0,9 Гц, 2H), 1,04 (д, J=0,9 Гц, 6H).

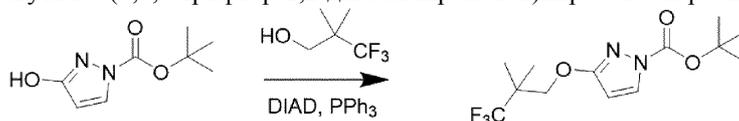
трет-Бутил 3-оксо-2,3-дигидро-1H-пиразол-1-карбоксилат.



Запускали реактор на 50 л, контролируемый Sygris, и температуру рубашки устанавливали на 20°C, перемешивали при 150 об/мин, обратный холодильник (10°C) и продували азотом. Добавляли MeOH (2,860 л) и метил (E)-3-метоксипроп-2-еноат (2,663 кг, 22,76 моль) и реактор закрывали. Реакционную смесь нагревали до внутренней температуры 40°C и систему устанавливали для поддержания температуры рубашки при 40°C. Гидразин гидрат (1300 г, 55% мас./мас., 22,31 моль) добавляли порциями через капельную воронку в течение 30 мин. Реакционную смесь нагревали до 60°C в течение 1 ч. Реакционную смесь охлаждали до 20°C и порциями добавляли триэтиламин (2,483 кг, 3,420 л, 24,54 моль), поддерживая

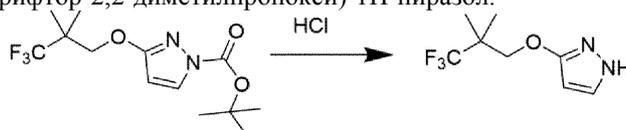
температуру реакции  $<30^{\circ}\text{C}$ . Раствор Вос-ангидрида (ди-трет-бутилдикарбоната) (4,967 кг, 5,228 л, 22,76 моль) в MeOH (2,860 л) добавляли порциями, поддерживая температуру  $<45^{\circ}\text{C}$ . Реакционную смесь перемешивали при  $20^{\circ}\text{C}$  в течение 16 ч. Реакционный раствор частично упаривали для удаления MeOH, в результате чего получали масло светло-янтарного цвета. Полученное масло переносили в реактор на 50 л, перемешивали и добавляли воду (7,150 л) и гептан (7,150 л). Добавки вызвали выпадение небольшого количества продукта. Водный слой сливали в чистый контейнер, а поверхность раздела и гептановый слой фильтровали для отделения твердого вещества (продукта). Водный слой переносили обратно в реактор и собранное твердое вещество помещали обратно в реактор, и смешивали с водным слоем. Капельную воронку добавляли в реактор и переносили уксусную кислоту (1,474 кг, 1,396 л, 24,54 моль), затем по каплям начинали добавлять кислоту. Температура рубашки была установлен на  $0^{\circ}\text{C}$ , чтобы поглотить экзотермический эффект. После добавления (pH=5) реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч. Твердое вещество отфильтровывали и промывали водой (7,150 л), второй раз промывали водой (3,575 л) и высушивали. Кристаллическое твердое вещество снимали с фильтра в роторную лампу объемом 20 л и добавляли гептан (7,150 л). Смесь суспендировали при  $45^{\circ}\text{C}$  в течение 30 минут, а затем отогнали 1-2 объема растворителя. Суспензию в колбе отфильтровали, а твердые вещества промывали гептаном (3,575 л) и высушивали. Твердое вещество дополнительно сушили в вакууме ( $50^{\circ}\text{C}$ , 15 мбар), получая трет-бутил 5-оксо-III-пиразол-2-карбоксилат (2921 г, 71%) в виде грубого кристаллического твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  10,95 (с, 1H), 7,98 (д,  $J=2,9$  Гц, 1H), 5,90 (д,  $J=2,9$  Гц, 1H), 1,54 (с, 9H).

Стадия А. трет-Бутил 3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропокси)пиразол-1-карбоксилат.



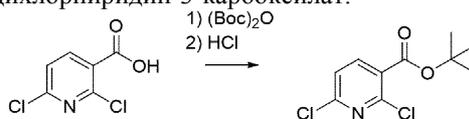
Смесь 3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропан-1-ола (10 г, 70,36 ммоль) и трет-бутил-3-гидроксипиразол-1-карбоксилата (12,96 г, 70,36 ммоль) в толуоле (130 мл) обрабатывали трифенилфосфином (20,30 г, 77,40 ммоль), а затем изопропил-N-изопропоксикарбонилиминокарбаматом (14,99 мл, 77,40 ммоль) и смесь перемешивали при  $110^{\circ}\text{C}$  в течение 16 ч. Желтый раствор упаривали при пониженном давлении, разбавляли гептаном (100 мл) и выпавший в осадок трифенилфосфиноксид удаляли фильтрацией и промывали смесью гептан/толуол 4:1 (100 мл). Желтый фильтрат упаривали и остаток очищали хроматографией на силикагеле с линейным градиентом этилацетата в гексане (0-40%), получая трет-бутил 3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропокси)пиразол-1-карбоксилат (12,3 г, 57%) в виде не совсем белого твердого вещества. MS-ЭСИ  $m/z$  расчит. 308,13477, найдено 309,0 ( $M+1$ )<sup>+</sup>; Время удерживания: 1,84 минуты.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  8,10 (д,  $J=3,0$  Гц, 1H), 6,15 (д,  $J=3,0$  Гц, 1H), 4,18 (с, 2H), 1,55 (с, 9H), 1,21 (с, 6H).

Стадия В. 3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропокси)-1H-пиразол.



Трет-бутил-3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропокси)пиразол-1-карбоксилат (13,5 г, 43,79 ммоль) обрабатывали 4 М соляной кислоты в диоксане (54,75 мл, 219,0 ммоль) и смесь перемешивали при  $45^{\circ}\text{C}$  в течение 1 ч. Реакционную смесь упаривали досуха и остаток экстрагировали 1 М водным NaOH (100 мл) и метил-трет-бутиловым эфиром (100 мл), промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл) и экстрагировали метил-трет-бутиловым эфиром (50 мл). Объединенные органические фазы сушили, фильтровали и выпаривали, получая 3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропокси)-III-пиразол (9,0 г, 96%) в виде не совсем белого воскообразного твердого вещества. MS-ЭСИ  $m/z$  расчит. 208,08235, найдено 209,0 ( $M+1$ )<sup>+</sup>; Время удерживания: 1,22 мин.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  11,91 (с, 1H), 7,52 (д,  $J=2,2$  Гц, 1H), 5,69 (т,  $J=2,3$  Гц, 1H), 4,06 (с, 2H), 1,19 (с, 6H).

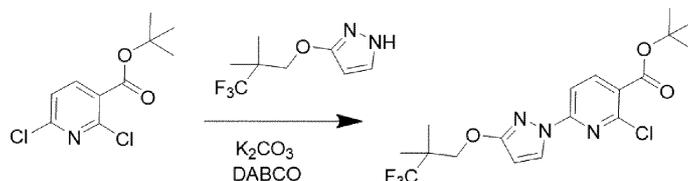
Стадия С. трет-Бутил 2,6-дихлорпиридин-3-карбоксилат.



Раствор 2,6-дихлорпиридин-3-карбоновой кислоты (10 г, 52,08 ммоль) в ТГФ (210 мл) последовательно обрабатывали ди-трет-бутилдикарбонатом (17 г, 77,89 ммоль) и 4-(диметиламино)пиридином (3,2 г, 26,19 ммоль), и оставляли перемешиваться в течение ночи при комнатной температуре. В этот момент добавляли 1 н. HCl (400 мл) и смесь энергично перемешивали в течение около 10 мин. Продукт экстрагировали этилацетатом (2×300 мл) и объединенные органические слои промывали водой (300 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (150 мл), и сушили над сульфатом натрия и упаривали при пониженном давлении, получая 12,94 г (выход 96%) трет-бутил-2,6-дихлорпиридин-3-карбоксилат в виде

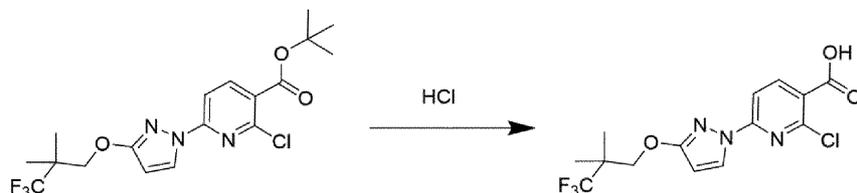
бесцветного масла. МС-ЭСИ  $m/z$  расчит. 247,01668, найдено 248,1 (M+1)<sup>+</sup>; Время удерживания: 2,27 минуты. <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>) м.ч. 1,60 (с, 9H), 7,30 (д, J=7,9 Гц, 1H), 8,05 (д, J=8,2 Гц, 1H).

Стадия D. трет-Бутил 2-хлор-6-[3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропокси)пиразол-1-ил]пиридин-3-карбоксилат.



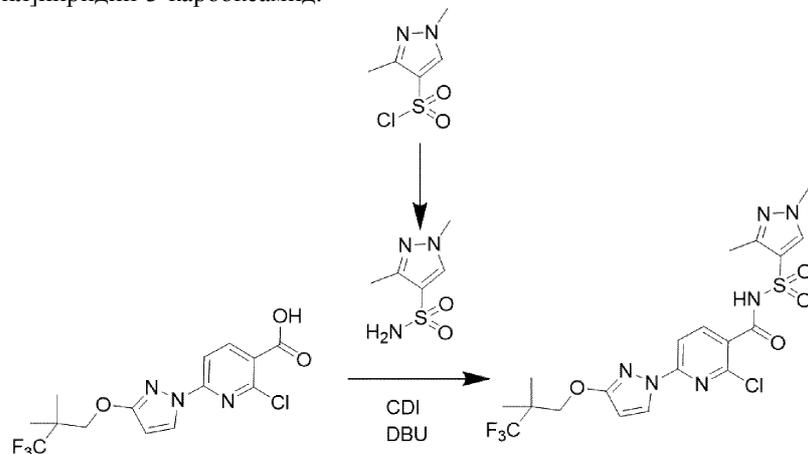
К раствору трет-бутил-2,6-дихлорпиридин-3-карбоксилата (10,4 г, 41,9 ммоль) и 3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропокси)-1H-пиразола (9,0 г, 41,93 ммоль) в ДМФА (110 мл) добавляли карбонат калия (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) (7,53 г, 54,5 ммоль) и 1,4-диазабицикло[2,2,2]октан (DABCO) (706 мг, 6,29 ммоль), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Кремообразную суспензию охлаждали на бане с холодной водой и медленно добавляли холодную воду (130 мл). Густую суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, фильтровали и промывали большим количеством воды с получением трет-бутил-2-хлор-6-[3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропокси)пиразол-1-ил]пиридин-3-карбоксилат (17,6 г, 99%) в виде не совсем белого твердого вещества. МС-ЭСИ  $m/z$  расчит. 419,12234, найдено 420,0 (M+1)<sup>+</sup>; Время удерживания: 2,36 минуты. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,44 (д, J=2,9 Гц, 1H), 8,31 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,76 (д, J=8,4 Гц, 1H), 6,26 (д, J=2,9 Гц, 1H), 4,27 (с, 2H), 1,57 (с, 9H), 1,24 (с, 6H).

Стадия E. 2-хлор-6-[3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропокси)пиразол-1-ил]пиридин-3-карбоновая кислота.



Трет-бутил-2-хлор-6-[3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропокси)пиразол-1-ил]пиридин-3-карбоксилат (17,6 г, 40,25 ммоль) суспендировали в изопропанол (85 мл), обработанный соляной кислотой (34 мл 6 M, 201 ммоль) и нагретый до кипения с обратным холодильником в течение 3 ч (почти полностью растворился в растворе с обратным холодильником и снова начал выпадать в осадок). Суспензию разбавляли водой (51 мл) с обратным холодильником и оставляли охлаждаться до комнатной температуры при перемешивании в течение 2,5 ч. Твердое вещество отфильтровывали, промывали смесью изопропанол/вода 1:1 (50 мл), большим количеством воды и сушили в сушильном шкафу в вакууме при 45-50°C при атмосфере азота в течение ночи, с получением 2-хлор-6-[3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропокси)пиразол-1-ил]пиридин-3-карбоновой кислоты (13,7 г, 91%) в виде не совсем белого твердого вещества. МС-ЭСИ  $m/z$  расчит. 363,05975, найдено 364,0 (M+1)<sup>+</sup>; Время удерживания: 1,79 минуты. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 13,61 (с, 1H), 8,44 (д, J=2,9 Гц, 1H), 8,39 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,77 (д, J=8,4 Гц, 1H), 6,25 (д, J=2,9 Гц, 1H), 4,28 (с, 2H), 1,24 (с, 6H).

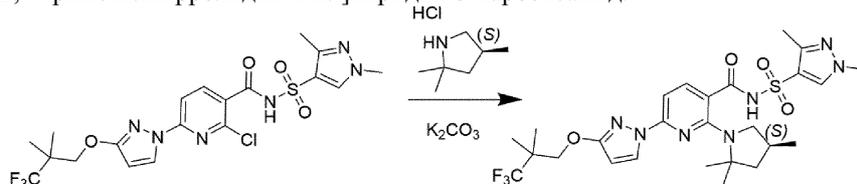
Стадия F. 2-хлор-N-(1,3-диметилпиразол-4-ил)сульфонил-6-[3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропокси)пиразол-1-ил]пиридин-3-карбоксамид.



2-Хлор-6-[3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропокси)пиразол-1-ил]пиридин-3-карбоновую кислоту (100 мг, 0,2667 ммоль) и CDI (512 мг 3,158 ммоль) объединяли в ТГФ (582,0 мкл), и смесь перемешивали при комнатной температуре. Тем временем 1,3-диметилпиразол-4-сульфонилхлорид (62 мг, 0,3185 ммоль) объединяли с аммиаком (в метаноле) в отдельном флаконе, в результате чего мгновенно образовалось

белое твердое вещество. После перемешивания в течение дополнительных 20 минут летучие вещества удаляли выпариванием и к твердому остатку добавляли 1 мл дихлорметана, и также упаривали. Затем добавляли DBU (100 мкл, 0,6687 ммоль) и смесь перемешивали при 60°C в течение 5 минут с последующим добавлением ТГФ (1 мл), который затем выпаривали. Содержимое флакона, содержащего активированную CDI карбоновую кислоту в ТГФ, затем добавляли во флакон, содержащий вновь образованный сульфонамид и DBU, и реакционную смесь перемешивали в течение 4 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли 10 мл этилацетата и промывали 10 мл раствора лимонной кислоты (1 М). Водный слой экстрагировали этилацетатом (2×10 мл) и объединенные органические слои промывали насыщенным раствором хлорида натрия, сушили над сульфатом натрия и упаривали, получая продукт в виде белого твердого вещества (137 мг, 99%), которое использовали на следующей стадии без дальнейшей очистки. МС-ЭСИ m/z расчет. 520,09076, найдено 521,1 (M+1)<sup>+</sup>; Время удерживания: 0,68 минуты.

Стадия G. N-(1,3-диметилпиразол-4-ил)сульфонил-6-[3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропокси)пиразол-1-ил]-2-[(4S)-2,2,4-триметилпирролидин-1-ил]пиридин-3-карбоксамид.



2-хлор-N-(1,3-Диметилпиразол-4-ил)сульфонил-6-[3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропокси)пиразол-1-ил]пиридин-3-карбоксамид (137 мг, 0,2630 ммоль), (4S)-2,2,4-триметилпирролидин (гидрохлоридная соль) (118 мг, 0,7884 ммоль) и карбонат калия (219 мг, 1,585 ммоль) объединяли в ДМСО (685,0 мкл) и смесь нагревали при 130 °С в течение 16 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли 1 мл воды. После перемешивания в течение 15 минут содержимому флакона давали осесть, и жидкую часть удаляли с помощью пипетки, а оставшиеся твердые вещества растворяли в 20 мл этилацетата и промывали 1 М лимонной кислотой (15 мл). Слои разделяли и водный слой экстрагировали еще два раза 15 мл этилацетата. Органические вещества объединяли, промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над сульфатом натрия и упаривали. Полученное твердое вещество дополнительно очищали хроматографией на силикагеле, элюируя градиентом метанола в дихлорметане (0-10%) с получением N-(1,3-Диметилпиразол-4-ил)сульфонил-6-[3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропокси)пиразол-1-ил]-2-[(4S)-2,2,4-триметилпирролидин-1-ил]пиридин-3-карбоксамид (72 мг, 41%) в виде белого твердого вещества. МС-ЭСИ m/z расчет. 597,2345, найдено 598,3 (M+1)<sup>+</sup>; Время удерживания: 2,1 минуты. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 12,36 (с, 1H), 8,37 (с, 1H), 8,22 (д, J=2,8 Гц, 1H), 7,74 (д, J=8,2 Гц, 1H), 6,93 (д, J=8,2 Гц, 1H), 6,17 (д, J=2,8 Гц, 1H), 4,23 (с, 2H), 3,81 (с, 3H), 2,56 (д, J=10,4 Гц, 1H), 2,41 (т, J=8,7 Гц, 1H), 2,32 (с, 3H), 2,18 (дд, J=12,4, 6,1 Гц, 1H), 1,87 (дд, J=11,7, 5,5 Гц, 1H), 1,55 (д, J=11,2 Гц, 6H), 1,42 (т, J=12,0 Гц, 1H), 1,23 (с, 6H), 0,81 (д, J=6,2 Гц, 3H).

#### 1. Получение формы А.

Кристаллическая форма А была получена с помощью следующего способа синтеза. 2-хлор-N-(1,3-Диметилпиразол-4-ил)сульфонил-6-[3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропокси)пиразол-1-ил]пиридин-3-карбоксамид (108 г, 207,3 ммоль), (4S)-2,2,4-триметилпирролидин (хлористоводородная соль) (77,55 г, 518,2 ммоль) объединяли с K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (143,2 г, 1,036 моль) в ДМСО (432,0 мл) и 1,2-диэтоксиэтаном (108,0 мл) в круглодонной колбе объемом 1 л с обратным холодильником. Полученную суспензию нагревали при 120°C и перемешивали при температуре в течение ночи. Затем реакционную смесь разбавляли ДХМ (1,080 л) и медленно добавляли HCl (933,0 мл 2 М, 1,866 моль). Жидкие фазы разделяли и водную фазу экстрагировали ДХМ (540,0 мл). Органические фазы объединяли, промывали водой (540,0 мл) (3 раза), затем сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> с получением янтарного раствора. Добавляли силикагель (25 г), а затем осушитель/силикагель отфильтровывали. Фильтрующий слой промывали ДХМ (3×50 мл). Органические фазы объединяли и упаривали (40°C/40 торр), получая неочищенный N-(1,3-Диметилпиразол-4-ил)сульфонил-6-[3-(3,3,3-трифтор-2,2-диметилпропокси)пиразол-1-ил]-2-[(4S)-2,2,4-триметилпирролидин-1-ил]пиридин-3-карбоксамид (198,6 г, теория 160%) в виде не совсем белого твердого вещества. Твердое вещество разбавляли МТВЕ (750 мл), нагревали до 60°C (внешняя температура) и смешивали до гомогенной суспензии. Суспензию охлаждали до 30°C при перемешивании и твердое вещество отфильтровывали, сушили на воздухе и в вакууме, получая соединение I (111,1 г; 90%) в виде мелкого белого порошка.

Кристаллическую форму А также получали с помощью следующей процедуры. Суспензию соединения I (150,0 г, 228,1 ммоль) в изо-PrOH (480 мл) и воде (120 мл) нагревали при 82°C с получением раствора. Раствор охлаждали с помощью контроллера J-Kem со скоростью охлаждения 10°C/ч. Как только температура достигла 74°C, в раствор добавляли образец соединения I в кристаллической форме А. Кристаллизация происходила немедленно. Суспензию охлаждали до 20°C. Твердое вещество отфильтровывали, промывали изо-PrOH (2×75 мл), сушили на воздухе с вакуум-насосом и сушили в вакууме (55°C/300 торр/отбор N<sub>2</sub>), получая соединение I, форма А (103,3 г) в виде белого порошка. Образец охлаждали до ~ 5°C, давали перемешиваться в течение 1 ч, а затем твердое вещество отфильтровывали

(стеклянный фильтр/бумага). Осадок на фильтре промывали изо-PrOH (75 мл) (2 раза), сушили на воздухе с вакуум-насосом, сушили на воздухе в сушильном сосуде (в основном высушеного 120,6 г), сушили в вакууме (55°C/300 Торр/N<sub>2</sub>) в течение 4 ч, а затем при к.т. в течение ночи. Сушка в течение ночи дала 118,3 г (выход 87%) белого порошка.

## 2. Приготовление высушенной распылением дисперсии соединения I.

Высушенную распылением дисперсию соединения I получали с использованием распылительной сушилки Buchi Mini Spray Dryer B290. НРМСАС-НГ (15,0 г) растворяли в 200 мл MeOH/ДХМ (1/3), и добавляли соединение I (15,0 г) и перемешивали в течение 30 минут, получая прозрачный раствор. Полученный раствор подвергали распылительной сушке в следующих условиях, что приводило к получению высушенной распылением дисперсии 50% соединения I/50% НРМСАС-НГ (выход: 70%, загрузка твердого вещества: 13%).

	Условия
Температура на входе (°C)	80
Температура на выходе (°C)	39
Давление азота (фунт/кв. дюйм)	95
Аспиратор (%)	100
Насос (%)	25
Ротаметр (мм)	60
Давление фильтра (мБар)	-50
Температура конденсатора (°C)	-10

## 3. Порошковая рентгеновская дифракция.

Измерения порошковой рентгеновской дифракции были выполнены с использованием дифрактометра PANalytical's X-pert Pro при комнатной температуре и атмосферном давлении с излучением меди (1,54060 Å). Оптика падающего луча состояла из щели с переменной расходимостью для обеспечения постоянной освещенной длины на образце и на стороне дифрагированного луча; был использован быстрый линейный твердотельный детектор с активной длиной 2,12 градуса 2 тета, измеренной в режиме сканирования. Образец порошка был упакован в области с отступом кремниевого держателя с нулевым фоном, и было выполнено растягивание для достижения лучшей статистики. Симметричное сканирование измерялось от 4 до 40 градусов 2 тета с размером шага 0,017 градуса и временем шага сканирования 15,5 с.

На фиг. 1 продемонстрирован спектр XRPD формы A соединения I.

Фиг. 2 представляет собой экспериментальную XRPD формы A соединения I (вверху) по сравнению с рассчитанной XRD (внизу), которая рассчитывается по данным полученным от монокристалла. Была установлена монокристаллическая структура формы A. Кристаллическая структура подтверждает абсолютную конфигурацию молекулы, и рассчитанные дифрактограммы XRPD показывают хорошее согласие с экспериментальными дифрактограммами. Форма A соединения I образует орторомбическую элементарную ячейку P212121, a=15,74 b=22,86 c=26,59 (ангстрем),  $\alpha=\beta=\gamma=90$ , Z=12 V=9575 Flack=0,08. Специалисту в данной области техники должно быть понятно, что эти параметры кристаллов могут изменяться в зависимости, например, от температуры, давления или изменчивости прибора

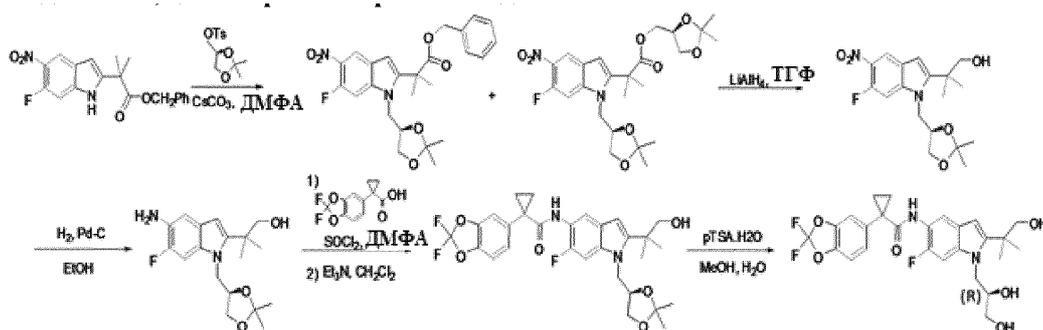
На фиг. 3 показано наложение экспериментальной и рассчитанной XRPD формы A соединения I с фиг. 2.

На фиг. 4 показан спектр XRPD аморфного соединения I, полученного сухой распылением дисперсии (SDD) 50% соединения I в НРМСАС-НГ.

4. Модулированная дифференциальная сканирующая калориметрия (MDSC) MDSC использовали для определения температуры стеклования аморфного материала MDSC выполняли с использованием дифференциального сканирующего калориметра TA Discovery DSC (TA Instalments, Нью-Касл, Делавер) Прибор был откалиброван с помощью индия Образцы приблизительно 1-3 мг были взвешены в герметичные тигели, которые были обжаты с использованием крышек с одним отверстием Образец MDSC сканировали при температуре от -20 до 200°C со скоростью нагрева 2°C/мин с модуляцией +/- 1°C в течение 1 минуты Данные были собраны и проанализированы программным обеспечением TA Instalments Trios (TA Instruments, Нью-Касл, Делавер)

На фиг. 5 продемонстрирован спектр MDSC высушенной распылением дисперсии (SDD) 50% соединения I в НРМСАС-НГ и продемонстрировано, что SDD имеет среднюю температуру около 106°C.

5. Пример 2 Синтез соединения II. (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.



Стадия А. (R)-Бензил-2-(1-((2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)-6-фтор-5-нитро-1Н-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-1Н-индол-2-ил)-2-метилпропаноат

Карбонат цезия (8,23 г, 25,3 ммоль) добавляли к смеси бензил 2-(6-фтор-5-нитро-1Н-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 ДМФА (17 мл). Реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение 46 ч в атмосфере азота. Затем смесь распределяли между этилацетатом и водой. Водный слой экстрагировали этилацетатом. Объединенные этилацетатные слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над MgSO<sub>4</sub>, фильтровали и упаривали. Неочищенный продукт, вязкое коричневое масло, которое содержит оба продукта, показанных выше, использовали непосредственно на следующей стадии без дальнейшей очистки. (R)-Бензил-2-(1-((2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)-6-фтор-5-нитро-1Н-индол-2-ил)-2-метилпропаноат, МС-ЭСИ m/z рассчит. 470,2, найдено 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-1Н-индол-2-ил)-2-метилпропаноат, МС-ЭСИ m/z рассчит. 494,5, найдено 495,7 (M+1)<sup>+</sup>. Время удерживания 2,01 мин.

Стадия В. (R)-2-(1-((2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)-6-фтор-5-нитро-1Н-индол-2-ил)-2-метилпропан-1-ол.

Неочищенную реакционную смесь, полученную на стадии (А), растворяли в ТГФ (42 мл) и охлаждали на бане со льдом и водой. По каплям добавляли LiAlH<sub>4</sub> (16,8 мл 1 М раствор, 16,8 ммоль). После завершения добавления, смесь перемешивали в течение дополнительных 5 минут. В реакционную смесь добавляли воду (1 мл), 15%-ный раствор NaOH (1 мл), а затем воду (3 мл). Смесь фильтровали через целит, а твердые вещества промывали ТГФ и этилацетатом. Фильтрат упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии (30-60% этилацетат-смесь изомеров гексана) с получением (R)-2-(1-((2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)-6-фтор-5-нитро-1Н-индол-2-ил)-2-метилпропан-1-ола в виде коричневого масла (2,68 г, 87% за 2 стадии). МС-ЭСИ m/z рассчит. 366,4, найдено 367,3 (M+1)<sup>+</sup>. Время удерживания 1,68 минуты. <sup>1</sup>Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 8,34 (д, J=7,6 Гц, 1Н), 7,65 (д, J=13,4 Гц, 1Н), 6,57 (с, 1Н), 4,94 (т, J=5,4 Гц, 1Н), 4,64-4,60 (м, 1Н), 4,52-4,42(м, 2Н), 4,16-4,14 (м, 1Н), 3,76-3,74 (м, 1Н), 3,63-3,53 (м, 2Н), 1,42 (с, 3Н), 1,38-1,36 (м, 6Н) и 1,19 (с, 3Н) м.ч.

Стадия С. (R)-2-(5-амино-1-((2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)-6-фтор-1Н-индол-2-ил)-2-метилпропан-1-ол.

(R)-2-(1-((2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)-6-фтор-5-нитро-1Н-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% мас.). Реакционную смесь снова продували азотом, а затем перемешивали в атмосфере H<sub>2</sub> (атм). Через 2,5 ч с помощью ЖХМС наблюдали только частичное превращение в продукт. Реакционную смесь фильтровали через целит и упаривали. Остаток повторно подвергали процедурам, указанным выше. Через 2 ч ЖХМС показала полное превращение в продукт. Реакционную смесь фильтровали через целит. Фильтрат упаривали, получая продукт в виде черного твердого вещества (1,82 г, 79%). МС-ЭСИ m/z рассчит. 336,2, найдено 337,5 (M+1)<sup>+</sup>. Время удерживания 0,86 минуты. <sup>1</sup>Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 7,17 (д, J=12,6 Гц, 1Н), 6,76 (д, J=9,0 Гц, 1Н), 6,03 (с, 1Н), 4,79-4,76 (м, 1Н), 4,46 (с, 2Н), 4,37-4,31 (м, 3Н), 4,06 (дд, J=6,1, 8,3 Гц, 1Н), 3,70-3,67 (м, 1Н), 3,55-3,52 (м, 2Н), 1,41 (с, 3Н), 1,32 (с, 6Н) и 1,21 (с, 3Н) м.ч.

Стадия D. (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)-1Н-индол-5-ил)циклопропанкарбоксамид.

ДМФА (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 ч образовался прозрачный раствор. Раствор упаривали в вакууме, а затем добавляли толуол (3 мл) и смесь снова упаривали. Стадию добавления толуола повторяли еще раз и остаток помещали в высокий вакуум на 10 мин. Хлорангидрид затем 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-1Н-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 ч. Реакционную смесь промывали 1 н. раствором HCl, насыщенным рас-

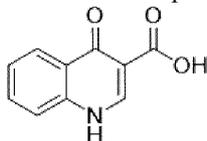
твором  $\text{NaHCO}_3$  и насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над  $\text{MgSO}_4$  и упаривали, получая продукт в виде черного пенистого твердого вещества (3 г, 100%). МС-ЭСИ  $m/z$  рассчит. 560,6, найдено  $561,7 (M+1)^+$ . Время удерживания 2,05 мин.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  8,31 (с, 1H), 7,53 (с, 1H), 7,42-7,40 (м, 2H), 7,34-7,30 (м, 3H), 6,24 (с, 1H), 4,51-4,48 (м, 1H), 4,39-4,34 (м, 2H), 4,08 (дд,  $J=6,0$ , 8,3 Гц, 1H), 3,69 (т,  $J=7,6$  Гц, 1H), 3,58-3,51 (м, 2H), 1,48-1,45 (м, 2H), 1,39 (с, 3H), 1,34-1,33 (м, 6H), 1,18 (с, 3H) и 1,14-1,12 (м, 2H) м.ч.

Стадия Е. (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.

(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  $p\text{-TsOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$  (204 мг, 1,1 ммоль). Реакционную смесь нагревали при  $80^\circ\text{C}$  в течение 45 мин. Раствор упаривали, а затем распределяли между этилацетатом и насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$ . Этилацетатный слой сушили над  $\text{MgSO}_4$  и упаривали. Остаток очищали колоночной хроматографией (50-100% этилацетат-смесь изомеров гексана), получая продукт в виде кремового пенистого твердого вещества. (1,3 г, 47%, ee >98% с помощью СФХ). МС-ЭСИ  $m/z$  рассчит. 520,5, найдено  $521,7 (M+1)^+$ . Время удерживания 1,69 минуты.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  8,31 (с, 1H), 7,53 (с, 1H), 7,42-7,38 (м, 2H), 7,33-7,30 (м, 2H), 6,22 (с, 1H), 5,01 (д,  $J=5,2$  Гц, 1H), 4,90 (т,  $J=5,5$  Гц, 1H), 4,75 (т,  $J=5,8$  Гц, 1H), 4,40 (дд,  $J=2,6$ , 15,1 Гц, 1H), 4,10 (дд,  $J=8,7$ , 15,1 Гц, 1H), 3,90 (с, 1H), 3,65-3,54 (м, 2H), 3,48-3,33 (м, 2H), 1,48-1,45 (м, 2H), 1,35 (с, 3H), 1,32 (с, 3H) и 1,14-1,11 (м, 2H) м.ч.

6. Пример 3. Синтез соединения III. N-(2,4-ди-трет-бутил-5-гидроксифенил)-4-оксо-1,4-дигидрохинолин-3-карбоксамид.

Часть А. Получение 4-оксо-1,4-дигидрохинолин-3-карбоновой кислоты.



Стадия А. Диэтиловый эфир 2-фениламинометиленамаленовой кислоты.

Смесь анилина (25,6 г, 0,275 моль) и диэтил-2-(этоксиметиленамалоната) (62,4 г, 0,288 моль) нагревали при  $140\text{-}150^\circ\text{C}$  в течение 2 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры и сушили при пониженном давлении, получая диэтиловый эфир 2-фениламинометиленамаленовой кислоты в виде твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  11,00 (д, 1H), 8,54 (д,  $J=13,6$  Гц, 1H), 7,36-7,39 (м, 2H), 7,13-7,17 (м, 3H), 4,17-4,33 (м, 4H), 1,18-1,40 (м, 6H).

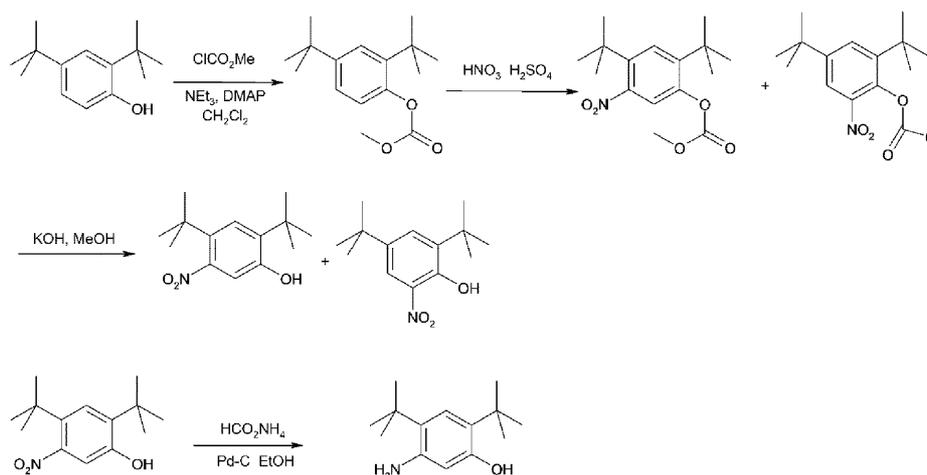
Стадия В. Этиловый эфир 4-гидроксихинолин-3-карбоновой кислоты.

В трехгорлую колбу объемом 1 л, снабженную механической мешалкой, загружали диэтиловый эфир 2-фениламинометиленамаленовой кислоты (26,3 г, 0,100 моль), полифосфорную кислоту (270 г) и фосфорилхлорид (750 г). Смесь нагревали до  $70^\circ\text{C}$  и перемешивали в течение 4 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры и фильтровали. Остаток обрабатывали водным раствором  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , фильтровали, промывали водой и сушили. Этиловый эфир 4-гидроксихинолин-3-карбоновой кислоты получали в виде бледно-коричневого твердого вещества (15,2 г, 70%). Неочищенный продукт использовали на следующей стадии без дальнейшей очистки.

Стадия С. 4-оксо-1,4-дигидрохинолин-3-карбоновая кислота.

Этиловый эфир 4-гидроксихинолин-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.  $\text{HCl}$ . Полученный осадок отфильтровывали, промывали водой и сушили в вакууме, получая 4-оксо-1,4-дигидрохинолин-3-карбоновую кислоту в виде бледно-белого твердого вещества (10,5 г, 92%).  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  15,34 (с, 1H), 13,42 (с, 1H), 8,89 (с, 1H), 8,28 (д,  $J=8,0$  Гц, 1H), 7,88 (м, 1H), 7,81 (д,  $J=8,4$  Гц, 1H), 7,60 (м, 1H).

Часть В. N-(2,4-ди-трет-бутил-5-гидроксифенил)-4-оксо-1,4-дигидрохинолин-3-карбоксамид.



Стадия А. Метилловый эфир 2,4-ди-трет-бутилфенилового эфира карбоновой кислоты.

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), охлаждали на бане со льдом и 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-смесь изомеров гексана (~ 4 л) в качестве элюента Объединенные фильтраты упаривали с получением метилового эфира 2,4-ди-трет-бутилфенилового эфира карбоновой кислоты в виде желтого масла (132 г, кол.) <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 7,35 (д, J=2,4 Гц, 1H), 7,29 (дд, J=8,5, 2,4 Гц, 1H), 7,06 (д, J=8,4 Гц, 1H), 3,85 (с, 3H), 1,30 (с, 9H), 1,29 (с, 9H).

Стадия В. 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.

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 со льдом и водой, добавляли охлажденную смесь серной кислоты (2 мл) и азотной кислоты (2 мл) Добавление проводили медленно, чтобы температура реакции не превышала 50°C Реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение 2 ч при нагревании до комнатной температуры Затем реакционную смесь добавляли в ледяную воду и экстрагировали диэтиловым эфиром Эфирный слой сушили (MgSO<sub>4</sub>), упаривали и очищали колоночной хроматографией (0-10% этилацетат-смесь изомеров гексана), получая смесь метилового эфира 2,4-ди-трет-бутил-5-нитрофенилового эфира карбоновой кислоты и метилового эфир 2,4-ди-трет-бутил-6-нитрофенилового эфира карбоновой кислоты в виде бледно-желтого твердого вещества (4,28 г), который использовали непосредственно на следующей стадии.

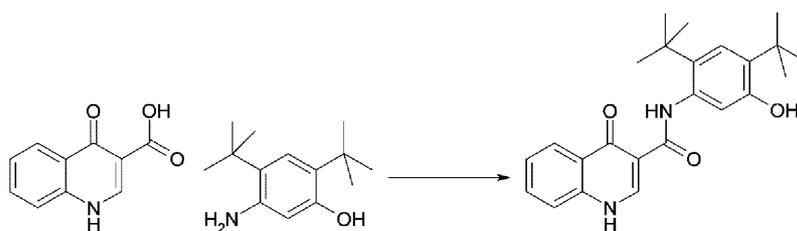
Стадия С. 2,4-ди-трет-Бутил-5-нитрофенол и 2,4-ди-трет-бутил-6-нитрофенол.

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 ч. Затем реакционную смесь подкисляли (pH 2-3), добавляя конц. HCl и распределяли между водой и диэтиловым эфиром. Эфирный слой сушили (MgSO<sub>4</sub>), упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии (0-5% этилацетат-смесь изомеров гексана), получая 2,4-ди-трет-бутил-5-нитрофенол (1,31 г, 29% через 2 стадии) и 2,4-ди-трет-бутил-6-нитрофенол. 2,4-Ди-трет-бутил-5-нитрофенол: <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 10,14 (с, 1H, OH), 7,34 (с, 1H), 6,83 (с, 1H), 1,36 (с, 9H), 1,30 (с, 9H). 2,4-Ди-трет-бутил-6-нитрофенол: <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 11,48 (с, 1H), 7,98 (д, J=2,5 Гц, 1H), 7,66 (д, J=2,4 Гц, 1H), 1,47 (с, 9H), 1,34 (с, 9H).

Стадия D. 5-Амино-2,4-ди-трет-бутилфенол.

К раствору 2,4-ди-трет-бутил-5-нитрофенола (1,86 г, 7,40 ммоль) при кипении с обратным холодильником и формиата аммония (1,86 г) в этаноле (75 мл) добавляли Pd-5% мас., на активированном угле (900 мг). Реакционную смесь перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 2 ч, охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через целит. Целит промывали метанолом и объединенные фильтраты упаривали, получая 5-амино-2,4-ди-трет-бутилфенол в виде серого твердого вещества (1,66 г, количеств.). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 8,64 (с, 1H, OH), 6,84 (с, 1H), 6,08 (с, 1H), 4,39 (с, 2H, NH<sub>2</sub>), 1,27 (м, 18H); ВЭЖХ вр. уд. 2,72 мин, 10-99% CH<sub>3</sub>CN, 5 мин ввода; МС-ЭСИ 222,4 m/z [M+H]<sup>+</sup>.

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



К суспензии 4-оксо-1,4-дигидрохиолин-3-карбоновой кислоты (35,5 г, 188 ммоль) и НВТУ (85,7 г, 226 ммоль) в ДМФА (280 мл) добавляли  $\text{Et}_3\text{N}$  (63,0 мл, 451 ммоль) при температуре окружающей среды. Смесь становилась гомогенной, после чего ее перемешивали в течение 10 мин, после чего небольшими порциями добавляли 5-амино-2,4-ди-трет-бутилфенол (50,0 г, 226 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи при температуре окружающей среды. В ходе реакции смесь становилась гетерогенной. После того как вся кислота была израсходована (ЖХ-МС анализ, МН+190, 1,71 мин), растворитель удаляли в вакууме.  $\text{EtOH}$  добавляли к оранжевому твердому веществу для получения суспензии. Смесь перемешивали на роторном испарителе (температура бани  $65^\circ\text{C}$ ) в течение 15 мин, не помещая систему в вакуум. Смесь фильтровали и захваченное твердое вещество промывали смесью изомеров гексана с получением белого твердого вещества, которое представляло собой кристаллат  $\text{EtOH}$ .  $\text{Et}_2\text{O}$  добавляли к полученному выше твердому веществу до образования суспензии. Смесь перемешивали на роторном испарителе (температура бани  $25^\circ\text{C}$ ) в течение 15 мин, не помещая систему в вакуум. Смесь фильтровали и твердое вещество собирали на фильтре. Данную процедуру выполняли 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-1Н-хиолин-3-карбоксамид в виде белого порошкообразного твердого вещества (38 г, 52%). ВЭЖХ вр. уд. 3,45 мин, 10-99%  $\text{CH}_3\text{CN}$ , 5 мин пробега;  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  12,88 (с, 1H), 11,83 (с, 1H), 9,20 (с, 1H), 8,87 (с, 1H), 8,33 (д,  $J=8,2, 1,0$  Гц, 1H), 7,83-7,79 (м, 1H), 7,76 (д,  $J=7,7$  Гц, 1H), 7,54-7,50 (м, 1H), 7,17 (с, 1H), 7,10 (с, 1H), 1,38 (с, 9H), 1,37 (с, 9H); МС-ЭСИ  $m/z$  расчит. 392,21; найдено 393,3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

Пример 4. Синтез N-(2-(трет-бутил)-4-(трет-бутил-d)-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.

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 атом.% D, Cambridge Isotope Laboratories, Inc.) в дихлорметане (40,0 мл) добавляли  $\text{D}_2\text{SO}_4$  (1,50 мл, 99,5 ат.% D, Sigma-Aldrich). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 ч, затем разбавляли водой и экстрагировали дихлорметаном ( $3 \times 100$  мл). Органические слои объединяли, промывали насыщенным  $\text{NaHCO}_3$ , сушили ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), фильтровали и упаривали в вакууме. Полученное масло очищали с помощью колоночной хроматографии ( $\text{SiO}_2$ , 0-15% этилацетат/смесь изомеров гептана), получая 2-(трет-бутил-d<sub>9</sub>)-4-(трет-бутил)-6-d-фенол (4,04 г, 83% выход) в виде прозрачного масла.  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{d}_6$ - $\text{DMCO}$ , 400 МГц)  $\delta$  9,04 (с, 1H), 7,12 (д,  $J=2,4$  Гц, 1H), 6,98 (дд,  $J=3,8, 2,5$  Гц, 1H), 6,67 (д,  $J=8,3$  Гц, 0,3H), 1,22 (с, 10H).

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

К раствору 2-(трет-бутил-d<sub>9</sub>)-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  $0^\circ\text{C}$  добавляли метилхлорформиат (2,17 мл, 28,2 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 ч и добавляли дополнительное количество триметиламина (1,30 мл, 9,33 ммоль), и метилхлорформиат (0,550 мл, 7,15 ммоль). После перемешивания в течение дополнительного 1 ч реакционную смесь разбавляли 10% этилацетатом/смесь изомеров гептана и фильтровали через слой силикагеля. Затем слой силикагеля промывали дополнительными 10% этилацетатом/смесь изомеров гептана. Фильтрат объединяли и упаривали в вакууме, получая 2-(трет-бутил-d<sub>9</sub>)-4-(трет-бутил)-6-d-фенилметилкарбонат (4,69 г, выход 91%) в виде светло-желтого масла, которое переносили без очистки.  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{d}_6$ - $\text{DMCO}$ , 400 МГц)  $\delta$  7,33 (д,  $J=2,4$  Гц, 1H), 7,30-7,20 (м, 1H), 7,06 (д,  $J=8,5$  Гц, 0,3H), 3,84 (д,  $J=0,7$  Гц, 3H), 1,28 (с, 9H).

Стадия 3. 2-(трет-Бутил-d<sub>9</sub>)-4-(трет-бутил)-6-d-5-нитрофенол.

К раствору 2-(трет-бутил-d<sub>9</sub>)-4-(трет-бутил)-6-d-фенилметилкарбоната (4,69 г, 17,2 ммоль) в серной кислоте (2,00 мл) при  $0^\circ\text{C}$  по каплям добавляли 1:1 смесь серной кислоты и азотной кислоты (4,00 мл). Затем реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение двух часов, затем медленно добавляли в ледяную воду при интенсивном перемешивании. Полученную суспензию экстрагировали этилацетатом ( $3 \times 100$  мл) и объединенные органические слои сушили ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), фильтровали и упаривали, получая масло янтарного цвета, содержащее смесь региоизомеров. Затем данное неочищенное масло растворяли в  $\text{MeOH}$  (100 мл) и добавляли  $\text{KOH}$  (3,50 г). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, затем подкисляли до  $\text{pH}=2$  концентрированной  $\text{HCl}$ . Полученный раствор экстрагировали диэтиловым эфиром ( $3 \times 100$  мл), сушили ( $\text{MgSO}_4$ ), фильтровали и упаривали. Затем остаток очищали с помощью колоночной хроматографии ( $\text{SiO}_2$ , 0-5% этилацетат/смесь изомеров гептана) с получением 2-(трет-бутил-d<sub>9</sub>)-4-(трет-бутил)-6-d-5-нитрофенола (1,33 г, 30%) в виде светло-

желтого твердого вещества. МС (ЭСИ) 260,2 [(M-H)<sup>-</sup>].

Стадия 4. 5-Амино-2-(трет-бутил-d<sub>9</sub>)-4-(трет-бутил)-6-d-фенол.

Раствор 2-(трет-бутил-d<sub>9</sub>)-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, влажность 50%) и реакционную смесь продолжали перемешивать при кипячении с обратным холодильником в течение двух ч. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли ТГФ, фильтровали через Celite® и упаривали в вакууме, получая 5-амино-2-(трет-бутил-d<sub>9</sub>)-4-(трет-бутил)-6-d-фенол (1,19 г, 100%) в виде розового твердого вещества. МС (ЭСИ) 232,3 [(M+H)<sup>+</sup>].

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

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 ч. Затем реакционную смесь упаривали в вакууме и еще раз разбавляли в 5 М HCl в 2-пропаноле (20 мл). После перемешивания в течение дополнительных 15 ч при комнатной температуре реакционную смесь упаривали в вакууме и разбавляли насыщенным водным раствором гидрокарбоната 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 упаривали в вакууме, получая 5-амино-2-(трет-бутил-d<sub>9</sub>)-4-(трет-бутил)фенол (240 мг, 81%) в виде розового твердого вещества. <sup>1</sup>H ЯМР (d<sub>6</sub>-DMSO, 400 МГц) δ 8,62 (с, 1H), 6,83 (с, 1H), 6,08 (с, 1H), 1,27 (с, 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).

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 ДМФА (6,00 мл) добавляли HATU (198 мг, 0,521 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение трех часов, затем разбавляли насыщенным раствором 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 упаривали в вакууме. Полученный остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (SiO<sub>2</sub>, 0-70% этилацетат/смесь изомеров гептана), получая 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 (с, 1H), 11,81 (с, 1H), 9,19 (с, 1H), 8,86 (с, 1H), 8,32 (д, J=8,1, 1,4 Гц, 1H), 7,86-7,77 (м, 1H), 7,75 (д, J=8,2 Гц, 1H), 7,51 (с, 1H), 7,15 (с, 1H), 7,09 (с, 1H), 1,37 (с, 9H); МС (ЭСИ) 402,3 [(M+H)<sup>+</sup>].

Пример 5. Синтез соединения IV.

3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)циклопропанкарбоксамид)-3-метилпиридин-2-ил)бензойная кислота.

Соединение IV может быть получено путем сочетания хлорангирида с аминным остатком в соответствии со схемами IV-A-IV-D.

Схема IV-A. Синтез хлорангирида.

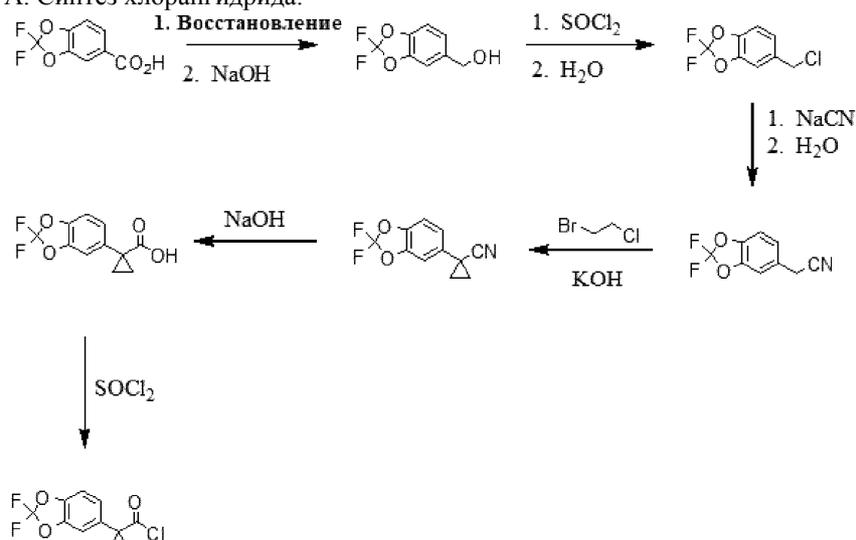


Схема IV-A изображает получение 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)циклопропанкарбонилхлорида, который используется в схеме синтеза IV-C для создания амидной связи соединения IV.

Исходное вещество, 2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-карбоновая кислота, коммерчески доступно от Saltigo (аффилированной компании Lanxess Corporation). Восстановление карбоксигруппы в 2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-карбоновой кислоте до первичного спирта с последующим превращением

в соответствующий хлорид с использованием тионилхлорида ( $\text{SOCl}_2$ ) дает 5-(хлорметил)-2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол, который впоследствии превращают в 2-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)ацетонитрил с использованием цианида натрия. Обработка 2-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)ацетонитрила основанием и 1-бром-2-хлорэтаном дает 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-циклопропанкарбонитрил. Нитрильную часть в 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)циклопропанкарбонитриле превращают в карбоновую кислоту с использованием основания с получением 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)циклопропанкарбоновой кислоты, которая превращается в желаемый хлорангидрид с использованием тионилхлорида.

Схема IV-B. Альтернативный синтез хлорангидрида.

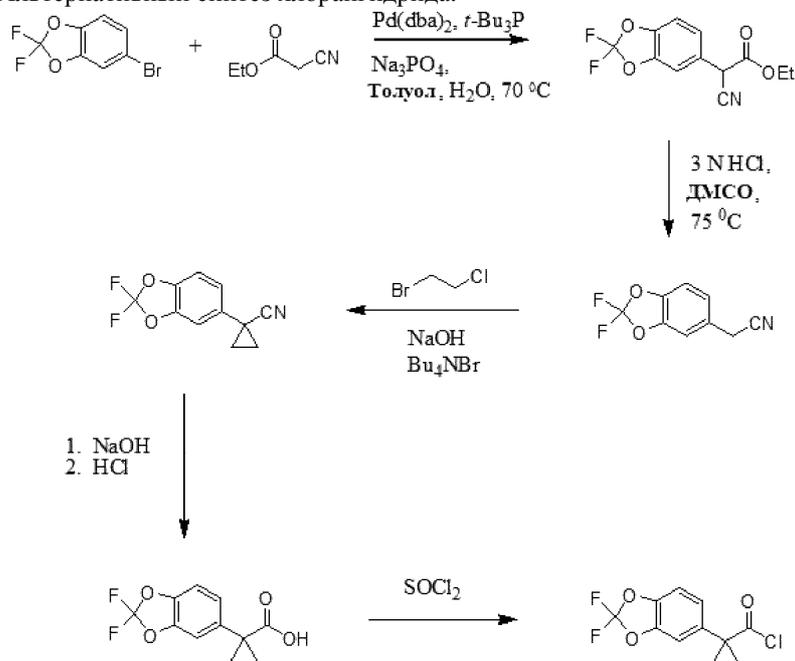


Схема IV-B изображает альтернативный синтез необходимого хлорангидрида кислоты. 5-Бромметил-2,2-дифтор-1,3-бензодиоксол приводили в контакт в реакции сочетания с этилцианоацетатом в присутствии палладиевого катализатора с образованием соответствующего альфа-цианоэтилового эфира. Омыление эфирной части до карбоновой кислоты давало цианоэтил соединение IV. Алкилирование цианоэтил соединения 1-бром-2-хлорэтаном в присутствии основания давало цианоциклопропил. Обработка цианоциклопропила основанием давало карбоксилатную соль, которая превращается в карбоновую кислоту обработкой кислотой. Превращение карбоновой кислоты в хлорангидрид затем осуществляли с использованием хлорирующего агента, такого как тионилхлорид или тому подобное.

Схема IV-C. Синтез аминного фрагмента.

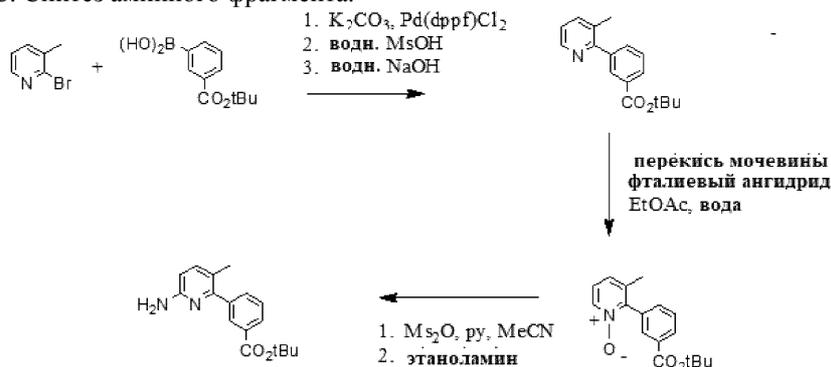
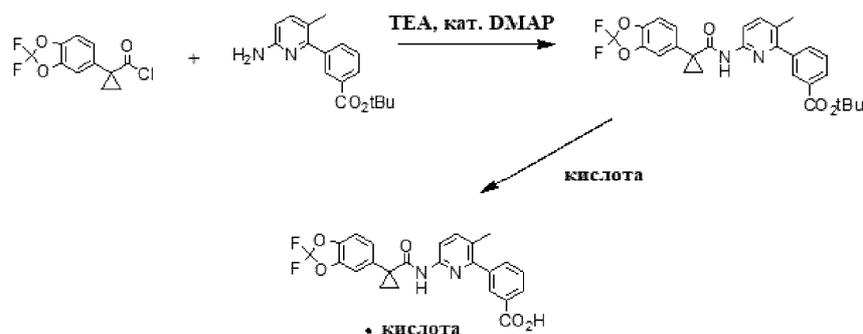


Схема IV-C демонстрирует получение необходимого трет-бутил-3-(6-амино-3-метилпиридин-2-ил)бензоата, который приводят в контакт с 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)циклопропанкарбонилхлоридом на схеме IV-C с получением соединения IV. Катализируемая палладием реакция сочетания 2-бром-3-метилпиридина с 3-(трет-бутоксикарбонил)фенилбороновой кислотой дает трет-бутил 3-(3-метилпиридин-2-ил)бензоат, который впоследствии превращается в желаемое соединение.

Схема IV-D. Образование кислой соли 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)циклопропанкарбоксамидо)-3-метилпиридин-2-ил)бензойной кислоты.



На схеме IV-D изображена реакция сочетания 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-5-ил)циклопропанкарбонилхлорида с трет-бутил-3-(6-амино-3-метилпиридин-2-илом)бензоатом с использованием триэтиламина и 4-диметиламинопиридина для первоначального получения трет-бутилового эфира соединения IV.

Пример 6.

Анализ для обнаружения и измерения модуляционных F508del-CFTR свойств соединений.

Мембранно-потенциальные оптические методы определения свойств модуляторов F508del-CFTR.

Оптический анализ использовали для измерения изменений мембранного потенциала, чтобы определить модуляционные CFTR свойства соединений. В анализе использовались флуоресцентные, чувствительные к мембранному потенциалу, красители для измерения изменений мембранного потенциала с использованием флуоресцентного планшет-ридера (например, FLIPR III, Molecular Devices, Inc.), полученные результаты являлись показателем увеличения функционального F508del в клетках NIH 3T3. Движущей силой реакции было создание градиента хлорид-ионов в сочетании с активацией канала и одновременной обработкой соединением посредством одностадийного добавления жидкости после того, как клетки были предварительно загружены в чувствительный к мембранному потенциалу краситель.

Процедура анализа.

Фибробласты мыши NIH3T3, стабильно экспрессирующие F508del, использовали для оптических измерений мембранного потенциала. Клетки поддерживали при 37°C в 5% CO<sub>2</sub> и 90% влажности в модифицированной по способу Дульбекко среде Игла с добавлением 2 мМ глутамина, 10% эмбриональной бычьей сыворотки, 1 X NEAA, P-ME, 1 X пенициллин/стрептомицин и 25 мМ HEPES в культуральные колбы объемом 175 см<sup>2</sup>. Для всех оптических анализов клетки высевали по 12000 клеток/лунку в 384-луночные планшеты, покрытые матригелем. Для анализа коррекции клетки культивировали при 37°C в течение 18-24 ч и добавляли чувствительный к напряжению краситель. Затем клетки активировали и обрабатывали соединением I. Через 18-24 ч измеряли флуоресценцию красителя, чувствительного к мембранному потенциалу клеток, для оценки значений мембранного потенциала, как показателя увеличения функционального CFTR F508del в клетках NIH3T3.

Используя этот способ, соединение I имело EC<sub>50</sub> менее 3 мкМ и % эффективности >100% по сравнению с соединением II.

Анализ с использованием камеры Уссинга.

Эксперименты с использованием камеры Уссинга проводили на поляризованных эпителиальных клетках дыхательных путей, экспрессирующих F508del, чтобы дополнительно охарактеризовать модуляторы F508del, идентифицированные в оптическом анализе выше. Эпителии дыхательных путей без CF и с CF выделяли из бронхиальной ткани, культивировали с использованием способов, хорошо известных в данной области техники, и высевали на фильтры Costar® Snapwell™, которые предварительно покрывали кондиционированной средой NIH3T3. Через четыре дня апикальную среду удаляли и клетки выращивали на границе раздела воздух-жидкость в течение >14 дней перед использованием. Это приводило к монослою полностью дифференцированных столбчатых клеток, которые были реснитчатыми, черты, которые характерны для эпителия дыхательных путей. Клетки бронхиального эпителия человека (HBE) без CF были выделены у некурящих пациентов, у которых не было ни одного известного заболевания легких. Клетки CF-HBE были выделены у пациентов, гомозиготных по F508del (F508del/F508del-HBE) или гетерозиготных по F508del с другой мутацией, вызывающей заболевание в другом аллеле.

Клетки HBE, выращенные на вставках для культивирования клеток Costar® Snapwell™, помещали в камеру Уссинга (Physiologic Instruments, Inc., Сан-Диего, Калифорния) и измеряли трансэпителиальное сопротивление и ток короткого замыкания в присутствии базолатерального и апикального Cl<sup>-</sup> градиента (I<sub>SC</sub>) с использованием системы зажимов напряжения (кафедра биоинженерии, Университет Айовы, Айова). Вкратце, клетки HBE исследовали в условиях записи в системе зажимов напряжения (V<sub>hold</sub>=0 мВ) при 37°C. Базолатеральный раствор содержал (в мМ) 145 NaCl, 0,83 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 3,3 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,2 MgCl<sub>2</sub>, 1,2 CaCl<sub>2</sub>, 10 глюкозы, 10 HEPES (pH доводили до 7,35 с помощью NaOH), а апикальный раствор содержал (в мМ) 145 NaGlucuronate, 1,2 MgCl<sub>2</sub>, 1,2 CaCl<sub>2</sub>, 10 глюкозы, 10 HEPES (pH доводили до 7,35 с помощью NaOH).

Процедура анализа с использованием камеры Уссинга.

Градиент концентрации  $Cl^-$  от базолатеральной к апикальной мембране устанавливали следующим образом. Нормальный раствор Рингера использовали на базолатеральной мембране, тогда как апикальный NaCl заменяли эквимоллярным раствором глюконата натрия (титровали до pH 7,4 с помощью NaOH), чтобы получить большой градиент концентрации  $Cl^-$  по всему эпителию. Соединение I добавляли либо к базолатеральной стороне за 18-24 ч до анализа, либо к апикальной стороне во время анализа. Форсколин (10 мкМ) добавляли к апикальной стороне во время анализа, чтобы стимулировать CFTR-опосредованный транспорт  $Cl^-$ . Хлоридный поток измеряли для оценки увеличения количества функционального CFTR в клеточной мембране.

В табл. 3 применяются следующие значения: EC50: "+++" означает <2 мкМ; "++" означает от 2 до 5 мкМ; "+" означает от 5 до 25 мкМ. %; эффективность: "+" означает <25%; "++" означает от 25% до 100%; "+++" означает > 100%.

Таблица 6

Соединение	НВЕ EC <sub>50</sub> (μМ)	НВЕ Макс. Эфф. (%)
Соединение I	+++	+++

Пример 7.

Соединение I представляет собой сильный, эффективный и селективный корректор CFTR следующего поколения, который работает путем облегчения обработки и переноса белка F508del-CFTR на клеточную поверхность, что приводит к усиленному транспорту хлоридов.

Комбинация соединения I и соединения II привела к более чем аддитивному улучшению в обработке и переносе CFTR по сравнению с одним из корректоров CFTR, предполагая, что два корректора CFTR действуют через разные механизмы действия, которые действуют синергически, увеличивая количество F508del-CFTR, доставленного на поверхность клетки.

Кроме того, более чем аддитивный эффект комбинации соединения I и соединения II на обработку и перенос CFTR предполагает, что два корректора CFTR действуют через разные механизмы, что приводит к доставке большего количества белка CFTR на поверхность клетки по сравнению с одним корректором CFTR.

Тройная комбинация соединения I, соединения II и соединения III усиливала транспорт хлоридов по сравнению с двойными комбинациями при большинстве концентраций соединения I. Соединение I вводили самцам крыс Спрег-Доули в виде единичной номинальной внутривенной (IV) дозы 3,0 мг/кг в растворе 10% NMP, 15% EtOH, 35% PEG400, 10% солютол и 30% D5W. Соединение I также вводили самцам крыс Спрег-Доули в однократной номинальной пероральной дозе (PO) 3 мг/кг в виде раствора 5% NMP, 30% PEG400, 10% TPGS, 5% PVP-K30 в дозе 5 мл/кг.

Дизайн исследования, отслеживание проб, расчет данных и концентрации отдельных проб плазмы хранились с использованием программного обеспечения Watson LIMS, версия 7.4.2 (Thermo Scientific Inc, Waltham, MA). Профили концентрации в плазме в зависимости от времени соединения I у крыс Спрег-Доули при запланированном (номинальном) времени отбора проб были проанализированы не-коммерческими фармакокинетическими способами с использованием функции ФК в программном обеспечении Watson LIMS, версия 7.4.2 (Thermo Scientific Inc, Уолтем, Массачусетс). Были определены ключевые фармакокинетические параметры, такие как "площадь под кривой" (AUC), от времени введения лекарственного средства, нулевое время, экстраполированное до бесконечности, клиренс (CL) и процент биодоступности при пероральном введении (% F). Значения AUC были рассчитаны с использованием линейного правила трапеции.

В приведенной ниже табл. 7 показано, что соединение I обладает благоприятным пероральным воздействием на крыс (AUC) и биодоступностью при пероральном введении.

Таблица 7

Соединение	Крыса в/в CL (мл/мин/кг)	Крыса п/о AUC (мкг/ч/мл)	Крыса п/о AUC/доза (мкг/ч/мл/мг/кг)	Крыса %F
Соединение I	1,6±0,4	23,5 ± 1,7	9,4 ± 0,7	84%

Пример 8. Исследование I по безопасности и эффективности соединения I.

Часть I со здоровыми субъектами.

В части I безопасность и переносимость соединения I в общей суточной дозе в диапазоне от 20 до 800 мг соединения I (например, 20 мг, 60 мг, 120 мг, 240 мг, 480 мг и 800 мг) изучены у здоровых субъектов при введении отдельно и в ТК (тройная комбинация) с соединением II 100 мг один раз в день и соединением III 150 мг каждые 12 ч.

По данным интрома, разовые дозы соединения I до 360 мг были безопасными и хорошо переносились; многократные дозы соединения I до 340 мг в течение 10 дней были безопасными и хорошо перено-

сились; и многократные дозы соединения I до 280 мг один раз в день в ТК (тройная комбинация) с соединением II в дозе 100 мг и соединением III в дозе 150 мг каждые 12 ч были безопасными и хорошо переносились после 14 дней приема.

Часть 2 с субъектами с муковисцидозом.

В части 2 оценка безопасности, переносимости и эффективности соединения I в сочетании с соединением II и соединением III у субъектов с муковисцидозом изучалась рандомизированным, двойным слепым методом, с плацебо и соединениями II/III. Часть 2 имеет две группы: группа А, включающая субъектов с генотипами F508del/MF (F/MF) (например, гетерозиготных по F508del со вторым аллелем CFTR, несущим мутацию MF, описанную в табл. В) (часть D) и группа В, включающая субъектов с генотипом F508del/F508del (F/F) (часть E).

Часть D была рандомизированной, двойной, слепой, плацебо-контролируемой и оценивающей соединение I в тройной комбинации (ТК) с соединением II и соединением III у субъектов с муковисцидозом, имеющими генотипы F/MF. После 4-недельного периода скрининга субъекты с генотипами F508del/MF были рандомизированы таким образом, что субъектам вводили ТК 50 мг один раз в день, 100 мг один раз в день или 200 мг один раз в день соединения I, а также 100 мг один раз в день соединения II и 150 мг соединения III каждые 12 ч в течение 28 дней с последующей двойной комбинацией соединения II и III в течение одной недели. Другим субъектам вводили тройное плацебо в течение 28 дней, а затем двойное плацебо в течение 1 недели. После 5 недель лечения все участники участвовали в 4-недельном периоде последующей оценки безопасности.

Часть E является рандомизированной, двойной слепой, с двойным комбо-контролем соединение II/соединение III контролирующей и оценивает соединение I в тройной комбинации (ТК) с соединением II и соединением III у субъектов с муковисцидозом, имеющим F/F-генотип. Для двойной комбинации соединения II и III субъектам вводят 50 мг каждые 12 ч ("каждые 12 ч") или 100 мг один раз в день ("один раз в день") соединения II и 150 мг соединения III каждые 12 ч. Субъектам, поддающимся лечению, вводят 50 мг один раз в день, 100 мг один раз в день, 150 мг один раз в день, 200 мг один раз в день или 250 мг один раз в день соединения I, 50 мг каждые 12 ч или 100 мг один раз в день соединения II и 150 мг соединения III каждые 12 ч на 28 дней лечения. Таблица 8: Группа воздействия и плановые дозы для части 2.

Часть	Группа воздействия/ контрольная группа	Дозировка Соединения I	Соединение	
			Соединение II Дозировка	III Дозировка
Часть D	ТК-высокая	200 мг один раз	100 мг один раз	150 мг каждые
Группа воздействия и плановые дозы для части 2				
Часть	Группа воздействия/ контрольная группа	Дозировка Соединения I	Соединение	
			Соединение II Дозировка	III Дозировка
		в день	в день	12 ч
	ТК-средняя	100 мг один раз	100 мг один раз	150 мг каждые
		в день	в день	12 ч
	ТК-низкая	50 мг один раз в	100 мг один раз	150 мг каждые
		день	в день	12 ч
	Тройное плацебо <sup>a</sup>	Плацебо	Плацебо	Плацебо
Часть E <sup>c</sup>	ТК-высокая	250 мг один раз	100 мг один раз	150 мг каждые
		в день	в день	12 ч
	Соединение	Плацебо <sup>b</sup>	100 мг один раз	150 мг каждые
	II/Соединение III		в день	12 ч

<sup>a</sup> Тройное плацебо: субъектам вводили плацебо для всех 3 соединений I, II и III.

<sup>b</sup> Плацебо: субъектам вводили плацебо для соединения I, 100 мг один раз в день соединения II и 150 мг каждые 12 ч соединения III.

<sup>c</sup> В части E все субъекты также получали 100 мг один раз в день соединения II и по 150 мг IVA каждые 12 ч в течение (1) 4-недельного вводного периода до 4-недельного периода лечения и (2) 4-недельного периода выведения после 4-недельный период лечения.

Первичные конечные точки для исследования включают: оценки безопасности и переносимости,

основанные на неблагоприятных событиях (AE) и серьезных неблагоприятных событиях (SAE) от исходного уровня до последующего наблюдения за безопасностью (например, до 28 дней после последней дозы) после лечения и абсолютного изменения в прогнозируемый процент объема форсированного выдоха за 1 секунду (ppFEV<sub>1</sub>) от исходного уровня до ежедневного 29 посещения ( $\pm 2$  дня). Вторичные конечные точки включают: абсолютное изменение концентраций хлорида натрия в потовой жидкости относительно исходного уровня до посещения на 29 день ( $\pm 2$  дня); относительное изменение ppFEV<sub>1</sub> от исходного уровня до 29 дня посещения ( $\pm 2$  дня); абсолютное изменение оценки респираторного домена при пересмотре вопросника о муковисцидозе (CFQ - R) по сравнению с исходным уровнем на 29 день посещения ( $\pm 2$  дня); параметры ФК, площадь под кривой концентрация- время во время дозирования (AUC<sub>tau</sub>) и наблюдаемая концентрация перед введением дозы (C<sub>trough</sub>) соединений I, II и III от базовой линии до периода последующей оценки безопасности.

Результаты части D.

В части D, как показано в табл. ниже, 4 недели введения соединения I в тройной комбинации с соединением II и соединением III у субъектов, гетерозиготных по F508del и с минимальной функциональной мутацией (F/MF) в возрасте 18 лет и старше, приводили к статистически значимому и клинически значимому улучшению ppFEV<sub>1</sub> (7,8-13,8 процентных пункта) и содержанию хлорида натрия в потовой жидкости (33,3-39,1 ммоль/л).

В частности, на день 29 наблюдалось среднее абсолютное улучшение ppFEV<sub>1</sub> на +11,1, +7,8 и +13,8 процентных пункта по сравнению с исходным уровнем у тех, кто получал тройную комбинацию соединения I (50 мг один раз в день), соединения II (100 мг один раз в день) и соединения III (150 мг, каждые 12 ч); соединения I (100 мг один раз в день), соединения II (100 мг один раз в день) и соединения III (150 мг, каждые 12 ч); и соединения I (200 мг один раз в день), соединения II (100 мг один раз в день) и соединения III (150 мг, каждые 12 ч). Для тех, кто получал плацебо, среднее абсолютное изменение ppFEV<sub>1</sub> составило +0,0.

	Плацебо N=12	Соединение I (50 мг, один раз в день)/ Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III (150 мг, каждые 12 ч) N=10	Соединение I (100 мг, один раз в день)/ Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III (150 мг, каждые 12 ч) N=22	Соединение I (200 мг, один раз в день)/ Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III (150 мг, каждые 12 ч) N=21
Базовый уровень ppFEV <sub>1</sub> ; Среднее (SD)	59,0 (14,9)	56,4 (14,6)	60,0 (15,5)	59,4 (18,0)
Среднее абсолютное внутригрупповое изменение от исходного уровня на 29 день <sup>#</sup> (SD)	0,0 (2,0)	11,1 (2,1)	7,8 (1,4)	13,8 (1,4)
p-значение	0,9943	<0,0001	<0,0001	<0,0001
(при лечении) <sup>#</sup>				

<sup>#</sup>Все p-значения находятся внутри групповых p-значений на основе моделей со смешанным эффектом; значения, выраженные как "через 29 дней", являются средними значениями для 15 и 29 дней.

На 29 день наблюдалось среднее снижение уровня содержания хлорида натрия в потовой жидкости на -38,2, -33,2 и -39,1 ммоль/л по сравнению с исходным уровнем у лиц, соответственно получавших

схемы тройного комбинирования соединения I (50 мг один раз в день), соединения II (100 мг один раз в день) и соединения III (150 мг, каждые 12 ч); соединения I (100 мг один раз в день), соединения II (100 мг один раз в день) и соединения III (каждые 12 ч); и соединения I (200 мг один раз в день), соединения II (100 мг один раз в день) и соединения III (150 мг, каждые 12 ч). Для тех, кто получал плацебо, среднее абсолютное снижение содержания хлорида натрия в потовой жидкости составило -2,2.

	Плацебо N=12	Соединение I (50 мг, один раз в день)/ Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III (150 мг, каждые 12 ч) N=10	Соединение I (100 мг, один раз в день)/ Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III (150 мг, каждые 12 ч) N=22	Соединение I (200 мг, один раз в день)/ Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III (150 мг, каждые 12 ч) N=21
Начальный уровень содержания хлорида натрия в потовой жидкости; Среднее значение (SD)	103,1 (8,2)	103,1 (7,8)	103,6 (12,2)	103,9 (9,7)
Среднее абсолютное	-2,2 (3,9)	-38,2 (4,2)	-33,2 (2,8)	-39,1 (2,9)
внутригрупповое изменение от исходного уровня на 29 день <sup>#</sup> (SD)				
р-значение (при лечении) <sup>#</sup>	0,5804	<0,0001	<0,0001	<0,0001

<sup>#</sup> Все р-значения находятся внутри групповых р-значений на основе моделей со смешанным эффектом; значения, выраженные как "через 29 дней", являются средними значениями для 15 и 29 дней.

Вторичная конечная точка в тройном комбинированном исследовании, Часть D, измеренное среднее абсолютное изменение дыхательного домена крысы CFQ, День 29. Среднее абсолютное улучшение для пациентов, получавших тройную комбинацию, составило 20,8 балла (50 мг соединения I), 15,4 балла (100 мг соединения I) и 25,7 балла (200 мг соединения I). Улучшение для тех, кто получал плацебо, составило 4,2 балла. Представленные результаты CFQ-R основаны на моделях со смешанным эффектом, не скорректированных с учетом контрольной группы CFQR.

Обзор нежелательных явлений, возникших в ходе лечения ("НЯВЛ") через 29 дней представлен ниже.

	Плацебо N=12	Соединение I (50 мг, один раз в день)/ Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III (150 мг, каждые 12 ч) N=10	Соединение I (100 мг, один раз в день)/ Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III (150 мг, каждые 12 ч) N=22	Соединение I (200 мг, один раз в день)/ Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III (150 мг, каждые 12 ч) N=21
Субъекты с любым НЯВЛ	12 (100,0)	9 (90,0)	20 (90,9)	17 (81,0)
Субъекты с тяжелым НЯВЛ	1 <sup>a</sup>	1 <sup>c</sup>	1 <sup>d</sup>	0
Субъекты с тяжелым НЯВЛ	2 <sup>a, b</sup>	1 <sup>c</sup>	2 <sup>d, e</sup>	0
Субъекты с НЯВЛ приводят к прекращению лечения	0	0	2 <sup>f, g</sup>	0
Субъекты с НЯВЛ приводят к прерыванию приема лекарственных средств	0	0	0	2 <sup>h, j</sup>

<sup>a</sup> ПЭС;

<sup>b</sup> кровохарканье;

<sup>c</sup> тромбоз яремной вены, ПЭС и синдром дистальной интестинальной обструкции у одного субъекта; ПЭС;

<sup>e</sup> ПЭС и инфлюэнца у одного субъекта;

<sup>f</sup> сыпь;

<sup>g</sup> повышенный билирубин;

<sup>h</sup> повышенный билирубин;

<sup>j</sup> констатация

Таким образом, режим тройной комбинации в части D исследования переносился в целом хорошо. Большинство нежелательных явлений были легкими или умеренными. Серьезные нежелательные явления были зарегистрированы у пяти пациентов: два пациента в группе плацебо (1 с кровохарканьем и 1 с инфекционным обострением легких) и три пациента в тройной комбинированной группе (1 пациент с инфекционным обострением легких, тромбоз яремной вены, связанный с центральной линией и синдром дистальной кишечной непроходимости, 1 пациент с инфекционным легочным обострением и гриппом, и 1 пациент с инфекционным легочным обострением). Ни одно из этих серьезных нежелательных явлений не рассматривалось как относящееся к лечению, и ни одно из них не привело к прекращению лечения. Наиболее частыми нежелательными явлениями (>10%), независимо от группы лечения, были кашель, увеличение количества мокроты, инфекционное легочное обострение, кровохарканье, головная боль, заложенность носа, тошнота, боль в ротоглотке и гипертермия. Два пациента прекратили лечение из-за нежелательных явлений в группах тройного комбинированного лечения (1 пациент с сыпью и 1 пациент с повышенным билирубином без повышения уровня трансаминаз) и ни один в группе плацебо. После прекращения лечения сыпь прошла, а увеличенный билирубин вернулся к исходному уровню. Два пациента прервали лечение из-за нежелательных явлений в группах с тройной комбинацией (1 констипация и 1 повышенный билирубин без повышения уровня трансаминаз); оба события разрешились, когда лечение было прервано, и оба пациента завершили тройное комбинированное лечение без дальнейших осложнений.

Тройные комбинации соединение I/соединение II/соединение III были в целом безопасны и хорошо переносились. Имело место 2 прерыва в получении лечения, оба в группе, получавшей соединение I по

200 мг, одно из-за увеличения билирубина и одно из-за констипации. Имело место 2 прекращения лечения, оба в группе, получавшей соединение I по 100 мг, одно из-за увеличения билирубина и одно из-за сыпи. В общей сложности 3 субъекта, получавших ТК, имели серьезные побочные эффекты; 1 произошло в конце, а 2 - после периода тройного комбинированного лечения. Наиболее частыми нежелательными явлениями (>10%), независимо от группы лечения, были кашель, увеличение количества мокроты, инфекционное легочное обострение, кровохарканье, головная боль, заложенность носа, тошнота, боль в ротоглотке и гипертермия.

Пример 9. Исследование 2 по безопасности и эффективности соединения I.

Оценка безопасности, переносимости и эффективности соединения I в сочетании с соединением II и соединением III-d у субъектов с муковисцидозом изучалась рандомизированным, двойным слепым, плацебо и соединениями II/III- и соединениями II/III-d контролируемым способом, с двумя группами: группа А, включающая субъектов с генотипами F508del/MF (F/MF) (например, гетерозиготных по F508del со вторым аллелем CFTR, несущим мутацию MF, описанную в табл. 5B) и группа В, включающая субъектов с генотипом F508del/F508del (F/F).

Как показано в табл. 8 выше, Часть D является рандомизированной, двойной слепой, плацебо-контролируемой и оценивает соединение I в ТК с соединением II и соединением III у субъектов с CF (генотипы F/MF). Часть F является рандомизированной, двойной слепой, плацебо-контролируемой и оценивает соединение I в ТК с соединением II и соединением III-d у субъектов с CF (генотипы F/MF).

Таблица 9

Группа воздействия и плановые дозы					
Часть	Группа воздействия/ контрольная группа	Дозировка Соединения I	Соединение	Соединение	Соединение
			II Дозировка	III Дозировка	III-d Дозировка
Часть D	ТК-высокая	200 мг один раз	100 мг один	150 мг	не
		в день	раз в день	каждые 12 ч	применяется
Часть F	ТК2- высокая	200 мг один раз	100 мг один	не	150 мг один
	Тройное	в день	раз в день	применяется	раз в день
	плацебо	Плацебо	Плацебо		Плацебо

Тройное плацебо: субъектам вводили плацебо для всех 3-х соединений I, II и III-d.

Первичные конечные точки для исследования включают: оценки безопасности и переносимости, основанные на неблагоприятных событиях (AE) и серьезных неблагоприятных событиях (SAE) относительно исходного уровня до последующего наблюдения за безопасностью (например, до 28 дней после последней дозы) после лечения и абсолютного изменения в прогнозируемом проценте объема форсированного выдоха за 1 секунду (ppFEV<sub>1</sub>) относительно исходного уровня до ежедневного 29 посещения ( $\pm 2$  дня). Вторичные конечные точки включают: абсолютное изменение концентраций хлорида натрия в потовой жидкости относительно исходного уровня до посещения на 29 день ( $\pm 2$  дня); относительное изменение ppFEV<sub>1</sub> от исходного уровня до 29 дня посещения ( $\pm 2$  дня); абсолютное изменение оценки респираторного домена при пересмотре вопросника о муковисцидозе (CFQ - R) по сравнению с исходным уровнем на 29 день посещения ( $\pm 2$  дня); параметры ФК, площадь под кривой времени концентрации во время дозирования (AUC<sub>tau</sub>) и наблюдаемая концентрация перед введением дозы (C<sub>trough</sub>) соединений I, II и III от базовой линии до периода последующей оценки безопасности.

Результаты части E.

В части E все пациенты получали 4-недельное введение соединения II в сочетании с соединением III. Затем пациентов рандомизировали для введения соединения I раз в день (200 мг) или плацебо к соединению II и соединению III в течение четырех недель. После 4-недельного периода тройного комбинированного дозирования все пациенты получали в течение четырех недель соединение II и соединение III с последующим 4-недельным периодом последующей оценки безопасности.

Как показано в таблицах ниже, лечение в течение 4 недель соединением I в тройной комбинации с соединением II и соединением III у субъектов, гомозиготных по F508del в возрасте 18 лет и старше, привело к статистически значимым и клинически значимым улучшениям в ppFEV<sub>1</sub> (11,0 процентных пункта) и содержанию хлорида натрия в потовой жидкости (39,6 ммоль/л).

В частности, на 29 день наблюдалось среднее абсолютное улучшение в ppFEV<sub>1</sub> на +11,0 процентных пункта по сравнению с исходным уровнем у пациентов, получавших схемы тройного комбинирования соединения I (200 мг один раз в сутки), соединения II (100 мг один раз в сутки) и соединения III (150 мг, каждые 12 ч). Для тех, кто получал плацебо, среднее абсолютное изменение ppFEV<sub>1</sub> составило +0,4.

	Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III (150 мг, каждые 12 ч) N=7	Соединение I (200 мг, один раз в день)/ Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III (150 мг, каждые 12 ч) N=21
Базовый уровень рFEV1; Среднее (SD)	62,8 (13,2)	60,0 (15,1)
Среднее абсолютное внутригрупповое изменение от исходного уровня на 29 день <sup>#</sup> (SD)	+0,4 (2,8)	+11,0 (1,5)
р-значение (при лечении) <sup>#</sup>	0,8869	<0,0001

<sup>#</sup>Все р-значения находятся внутри групповых р-значений на основе моделей со смешанным эффектом; значения, выраженные как "через 29 дней", являются средними значениями для 15 и 29 дней.

На 29 день наблюдалось среднее снижение уровня содержания хлорида натрия в потовой жидкости на -39,6 ммоль/л по сравнению с исходным уровнем у тех, кто получал лечение по схеме тройного комбинирования соединения I (200 мг один раз в день), соединения II (100 мг один раз в день) и соединения III (150 мг, каждые 12 ч). Для тех, кто получал плацебо, среднее абсолютное увеличение содержания хлорида натрия в потовой жидкости составило +0,8.

	Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III (150 мг, каждые 12 ч) N=7	Соединение I (200 мг, один раз в день)/ Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III (150 мг, каждые 12 ч) N=21
Начальный уровень содержания хлорида натрия в потовой жидкости; Среднее значение (SD)	99,5 (9,0)	92,7 (11,1)
Среднее абсолютное внутригрупповое изменение от исходного уровня на 29 день <sup>#</sup> (SD)	+0,8 (4,9)	-39,6 (2,8)
р-значение (при лечении) <sup>#</sup>	0,8712	<0,001

<sup>#</sup>Все р-значения находятся внутри групповых р-значений на основе моделей со смешанным эффектом; значения, выраженные как "через 29 дней", являются средними значениями для 15 и 29 дней.

Вторичная конечная точка в тройном комбинированном исследовании, Часть E, измеренное среднее абсолютное изменение дыхательного домена крысы CFQ, День 29. Среднее абсолютное улучшение для пациентов, получавших тройную комбинацию, составило 20,7 балла. Улучшение для тех, кто получил плацебо, составило 5,2 балла. Представленные результаты CFQ-R основаны на моделях со смешанным эффектом, не скорректированных с учетом контрольной группы CFQR.

Обзор нежелательных явлений, возникших в ходе лечения ("НЯВЛ") через 29 дней представлен ниже.

	Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III (150 мг, каждые 12 ч) N=7	Соединение I (200 мг, один раз в день)/ Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III (150 мг, каждые 12 ч) N=21
Субъекты с любым НЯВЛ	5 (71,4)	20 (95,2)
Субъекты с тяжелым НЯВЛ	1 <sup>a</sup>	1 <sup>c</sup>
Субъекты с тяжелым НЯВЛ	1 <sup>a</sup>	0
Субъекты с НЯВЛ приводят к прекращению лечения	1 <sup>b</sup>	1 <sup>d</sup>
Субъекты с НЯВЛ приводят к прерыванию приема лекарственных средств	1 <sup>b</sup>	1 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> ПЭС

<sup>b</sup> Увеличенный билирубин

<sup>c</sup> Миопатия/увеличенный СК и АСТ

<sup>d</sup> Боль в груди

Таким образом, режим тройной комбинации в части E исследования в целом хорошо переносился. Большинство нежелательных явлений были легкими или умеренными. В группе с тройной комбинацией не было зарегистрировано серьезных побочных эффектов, а в группе, получавшей плацебо, добавленной к тезакафтору и ивакафтору, было зарегистрировано одно серьезное нежелательное явление (легочное обострение). Наиболее частыми нежелательными явлениями, возникающими по крайней мере у двух пациентов в любой группе лечения, были увеличение количества мокроты, кашель, инфекционное легочное обострение, усталость, гипертермия, повышение АСТ, повышение КФК, озноб, кровохарканье, повышение АЛТ, нарушение дыхания и изменение цвета мокроты. Имело место одно прекращение лечения в группе с тройной комбинацией из-за возникновения нежелательного явления (боль в груди), и для одного пациента было прервано, а затем прекращено лечение в группе, которая получала плацебо, добавленное к тезакафтору и ивакафтору из-за нежелательного явления (увеличенный билирубин без повышения уровня трансаминаз). Для одного пациента в группе с тройной комбинацией было прервано лечение из-за нежелательных явлений (миопатия и увеличение КФК, АЛТ и АСТ), которые произошли в период лечения тезакафтором/ивакафтором, который последовал за тройным комбинированным дозированием. Нежелательные явления прекратились после прекращения лечения, и пациент впоследствии возобновил и завершил лечение в период тезакафтора/ивакафтора без каких-либо дополнительных случаев.

Результаты части F.

В части F, как показано в табл. ниже, 4 недельное введение соединения I в тройной комбинации с соединением II и соединением III-d у субъектов, гетерозиготных по F508del и минимальной функциональной мутации (F/MF) в возрасте 18 лет и старше, приводило к статистически значимому и клинически значимому улучшению ppFEV<sub>1</sub> (11,7 процентных пункта) и содержанию хлорида натрия в потовой жидкости (33,6 ммоль/л).

В частности, на день 29 наблюдалось среднее абсолютное улучшение ppFEV<sub>1</sub> на +11,7 процентных пункта по сравнению с исходным уровнем у пациентов, получавших схемы тройного комбинирования соединения I (200 мг один раз в день), соединения II (100 мг один раз в день) и соединения III-d (150 мг один раз в день). Для тех, кто получал тройное плацебо, среднее абсолютное изменение ppFEV<sub>1</sub> составило +1,2. Для пациентов из части D, группы "ТС-высокий", о которой говорилось выше, кто получал тройные комбинированные схемы соединения I (200 мг один раз в день), соединения II (100 мг один раз в день) и соединения III (150 мг каждые 12 ч) произошло среднее абсолютное изменение ppFEV<sub>1</sub> +13,8.

		Соединение I (200 мг, один раз в день)/ Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III-d (150 мг один раз в день) N=21	<b>ЧАСТЬ D, ТС-высокая</b> - Соединение I (200 мг, один раз в день)/ Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III (150 мг, каждые 12 ч) N=21
<b>Базовый уровень ррFEV1; Среднее (SD)</b>	60,7 (14,0)	60,6 (17,5)	59,4 (18,0)
<b>Среднее абсолютное внутригрупповое изменение от исходного уровня на 29 день<sup>#</sup> (SE)</b>	1,2 (2,6)	11,7 (1,6)	13,8 (1,4)
<b>р-значение (при лечении)<sup>#</sup></b>	0,6407	<0,0001	<0,0001

<sup>#</sup>Все р-значения находятся внутри групповых р-значений на основе моделей со смешанным эффектом; значения, выраженные как "через 29 дней", являются средними значениями для 15 и 29 дней.

На 29 день наблюдалось среднее снижение уровня содержания хлорида натрия в потовой жидкости на -33,6 ммоль/л по сравнению с исходным уровнем у тех, кто получал лечение по схеме тройного комбинирования соединения I (200 мг один раз в день), соединения II (100 мг один раз в день) и соединения III-d (150 мг один раз в день). Для тех, кто получал тройное плацебо, среднее абсолютное снижение содержания хлорида натрия в потовой жидкости составило -2,2. Для пациентов из части D, ТС-высокая, которые получали тройные комбинированные схемы соединения I (200 мг один раз в день), соединения II (100 мг один раз в день) и соединения III (150 мг один раз в день), наблюдалось среднее абсолютное снижение содержания хлорида натрия в потовой жидкости на -39,1.

		Соединение I (200 мг, один раз в день)/ Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III-d (150 мг, один раз в день) N=21	<b>ЧАСТЬ D, ТК-высокая -</b> Соединение I (200 мг, один раз в день)/ Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III (150 мг, каждые 12 ч) N=21
<b>Начальный уровень содержания хлорида натрия в потовой жидкости; Среднее значение (SD)</b>	96,4 (11,5)	100,8 (15,4)	103,9 (9,7)
<b>Среднее абсолютное внутригрупповое изменение от исходного уровня на 29 день<sup>#</sup> (SD)</b>	1,0 (4,6)	-33,6 (2,8)	-39,1 (2,9)
<b>р-значение (при лечении)<sup>#</sup></b>	0,8359	<0,0001	<0,0001

Все р-значения находятся внутри групповых р-значений на основе моделей со смешанным эффектом; значения, выраженные как "через 29 дней", являются средними значениями для 15 и 29 дней.

Вторичная конечная точка в тройном комбинированном исследовании.

Часть F, измеренное среднее абсолютное изменение дыхательного домена крысы CFQ, День 29. Среднее абсолютное улучшение для пациентов, которые получили тройную комбинацию с соединением III-d, составило 20,2 балла. Улучшение для тех, кто получил тройное плацебо, составило 20,2 балла. Улучшение для тех в части D, ТК-высокая, которые получили тройную комбинацию с соединением III, составило 25,7 балла. Представленные результаты CFQ-R основаны на моделях со смешанным эффектом, не скорректированных с учетом контрольной группы CFQR.

Обзор нежелательных явлений, возникших в ходе лечения ("НЯВЛ") через 29 дней представлен ниже.

	Тройное плацебо N=8	Соединение I (200 мг, один раз в день)/ Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III-d (150 мг один раз в день) N=21	ЧАСТЬ D, ТС- высокий - Соединение I (200 мг, один раз в день)/ Соединение II (100 мг, один раз в день)/ Соединение III (150 мг, каждые 12 ч) N=21
Субъекты с любым НЯВЛ	6 (75,0)	17 (81,0)	17 (81,0)
Субъекты с тяжелым НЯВЛ	0	0	
Субъекты с тяжелым НЯВЛ	1 <sup>a</sup>	0	0
Субъекты с НЯВЛ приводят к прекращению лечения	0	1 <sup>b</sup>	0
Субъекты с НЯВЛ, приводящие к прерыванию приема лекарственных средств	0	0	2 <sup>c, d</sup>

<sup>a</sup> ПЭС

<sup>b</sup> Сыпь

<sup>c</sup> Увеличенный билирубин

<sup>d</sup> Констипация

В этой части F режим тройной комбинации один раз в день для соединения I, соединения II и соединения III-d в целом хорошо переносился, и профиль безопасности был аналогичен наблюдаемому в части D выше для схемы тройной комбинации соединения I, соединения II и соединения III. Большинство нежелательных явлений были легкой или умеренной степени. О серьезных побочных эффектах сообщалось у одного пациента в группе плацебо (инфекционное обострение легких), а в группе, получавшей тройную комбинацию - серьезных побочных явлений не было. Наиболее частыми нежелательными явлениями, возникающими по меньшей мере у двух пациентов в любой группе лечения, были кашель, тошнота, боль в ротоглотке, инфекционное обострение легких, заложенность носа, кашель с мокротой, увеличение количества мокроты, боль в груди, дискомфорт околоносовых пазух, инфекция верхних дыхательных путей и рвота. Был один отказ от лечения в группе, получавшей тройную комбинацию из-за нежелательного явления (сыпь). После прекращения лечения сыпь прошла.

Краткое изложение результатов частей D, E и F приведено ниже.

Части D, E, F. Сводный обзор данных об эффективности.

	<b>Соединение I (200 мг) + Соединение II/ Соединение III N=21 (F/MF) (Часть D)</b>	<b>Соединение I (200 мг) + Соединение II/ Соединение III N=21(F/F) (Часть E)</b>	<b>Соединение I (200 мг) + Соединение II/ Соединение III-d N=21 (F/MF) (Часть F)</b>
<b><i>ppFEV1</i></b>			
Начальный уровень ppFEV1; Среднее значение (SD)	59,4 (18,0)	60,0 (15,1)	60,6 (17,5)
Среднее изменение, определенное методом наименьших квадратов (SE)	13,8 (1,4)	11,0 (1,5)	11,7 (1,6)
<b><i>Содержание хлорида натрия в потовой жидкости</i></b>			
Начальный уровень содержания хлорида натрия в потовой жидкости; Среднее значение (SD)	103,9 (9,7)	92,7 (11,1)	100,8 (15,4)
Среднее изменение, определенное методом наименьших квадратов (SE)	-39,1 (2,9)	-39,6 (2,8)	-33,6 (2,8)
<b><i>CFQR*</i></b>			
Начальный уровень CFQR; Среднее значение (SD)	61,1 (17,5)	71,2 (17,3)	63,8 (18,2)
Среднее изменение, определенное методом наименьших квадратов (SE)	25,7 (3,7)	20,7 (4,0)	20,2 (4,3)

\*MMRM без корректировки начального уровня CFQR

Пример 10. Исследование 3 по безопасности и эффективности соединения I.

Исследование 3A-1 будет рандомизированным, двойным слепым, контролируемым исследованием фазы 3 для оценки комбинации фиксированных доз соединения I (200 мг) с соединением II (100 мг) и соединением III (150 мг) утром, после чего следует соединение III (150 мг) вечером или плацебо в сочетании с соединением II и соединением III в течение 4 недель лечения у пациентов в возрасте 12 лет и старше, которые гомозиготны по мутации F508del (F/F). Приблизительно половина пациентов получит соединение I, соединение II и соединение III, и примерно половина пациентов получит плацебо, соединение II и соединение III. Все пациенты будут получать соединение II в сочетании с соединением III в течение 4 недель до начала периода тройного комбинированного лечения. Первичной конечной точкой исследования является среднее абсолютное изменение функции легких (ppFEV1) от исходного уровня (конец 4-недельного введения соединения II/соединения III) на четвертой неделе лечения соединением I в сочетании с соединением II и соединением III по сравнению с теми, кто получил плацебо, соединение II и соединение III.

Исследование 3B-1 будет рандомизированным, двойным слепым, плацебо-контролируемым исследованием фазы 3 для оценки комбинации фиксированной дозы соединения I (200 мг), соединения II (100 мг) и соединения III (150 мг) утром затем -соединение III (150 мг) вечером или тройное плацебо в течение 24 недель лечения у пациентов в возрасте 12 лет и старше, которые являются гетерозиготными по мутации F508del и мутации MF (субъекты F/MF). Первичной конечной точкой исследования будет среднее абсолютное изменение функции легких (ppFEV1) от исходного уровня на четвертой неделе тройного комбинированного лечения по сравнению с плацебо.

В исследовании 3А-2 следующие субъекты ТК и ДК для оценки комбинации фиксированных доз соединения I (200 мг) с соединением II (100 мг) и соединением III-d (150 мг) (один раз в день) будут изучаться у субъектов с муковисцидозом (CF), которые являются гомозиготными по мутации F508del (F/F). Общая продолжительность исследования составляет приблизительно 16 недель (4 недели для скрининга, затем 4 недели для периода запуска соединения II/соединения III, затем 4 недели для периода лечения, за которым следуют 4 недели для периода последующей оценки безопасности). В вводный период соединения II/соединения III все субъекты будут получать соединение II 100 мг один раз в день (один раз в день)/соединение III 150 мг каждые 12 ч (каждые 12 ч). После завершения вводного периода соединения II/соединения III субъекты будут рандомизированы в группу ТК или группу ДК в течение Периода лечения. Группа воздействия и дозы, которые должны быть оценены, показаны в таблице ниже.

		Вводный период			Период лечения				
Группа воздействия	Низкая	Доза Соединения I	Доза соединения II	Доза соединения III	Группа воздействия	Доза Соединения I	Доза соединения II	Доза соединения III-d	Доза соединения III
		Тройная Комбинация (ТК)	0 мг	100 мг один раз в день		150 мг каждые 12 ч	Тройная Комбинация (ТК) Низкая	100 мг один раз в день	100 мг один раз в день
Соединение II/Соединение III (ДК)		0 мг	100 мг один раз в день	150 мг каждые 12 ч	Тройная Комбинация (ТК) Высокая	200 мг один раз в день	100 мг один раз в день	150 мг каждые 12 ч	0 мг

В исследовании 3В-2 следующие субъекты ТК и ДК для оценки комбинации фиксированных доз соединения I (200 мг) с соединением II (100 мг) и соединением III-d (150 мг) (один раз в день) будут изучаться у субъектов с муковисцидозом (CF), которые являются гетерозиготными по мутации F508del и мутации MF (субъекты F/MF). Общая продолжительность исследования составляет приблизительно 32 недели (4 недели для периода скрининга, затем 24 недели для периода лечения, за которым следуют 4 недели для периода последующей оценки безопасности). В отличие от исследования 3А, в исследовании 3В отсутствует вводный период. Субъекты будут рандомизированы в группу ТК или группу тройного плацебо. Дозы, подлежащие оценке, приведены в табл. ниже.

Группа воздействия и дозы

Группа воздействия	Доза Соединения I	Доза соединения II	Доза соединения III-d
ТК Низкая	100 мг один раз в день	100 мг один раз в день	150 мг каждые 12 ч
ТК Высокая	200 мг один раз в день	100 мг один раз в день	150 мг каждые 12 ч
Тройное плацебо	0 мг	0 мг	0 мг

каждые 12 ч: каждые 12 ч; QD: один раз в день; ТК: тройная комбинация

Пример 11. Исследование 4 по безопасности и эффективности соединения I.

Для оценки долгосрочной безопасности и эффективности соединения I в исследовании 4 пациенты, завершившие период лечения в исследовании 3А или 3В, получают ТК в тех же дозах, которые были оценены в исследовании 3А или 3В. Общая продолжительность исследования составляет приблизительно 100 недель (включая 96-недельный период лечения (не включая 4 недели для исследования 3А или 3В) с последующим 4-недельным периодом наблюдения за безопасностью).

#### Другие варианты реализации изобретения

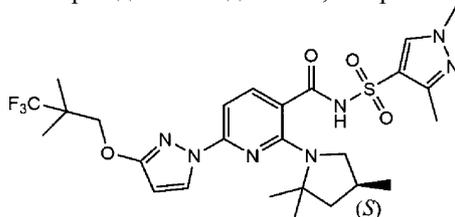
Вышеизложенное обсуждение раскрывает и описывает только типовые варианты реализации изобретения.

бретения данного изобретения. Специалист в данной области техники легко поймет из такого обсуждения и из прилагаемых графических материалов и формулы изобретения, что в них могут быть внесены различные изменения, модификации и изменения без отклонения от сущности и объема данного изобретения, как определено в следующей формуле изобретения.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

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

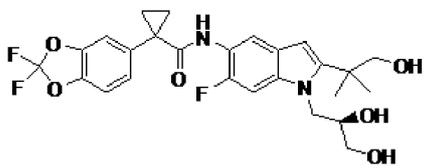
(a) от 10 до 900 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I



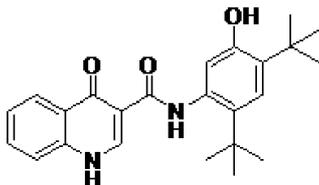
и его фармацевтически приемлемых солей ежедневно; и

(b) по меньшей мере одного соединения, выбранного из

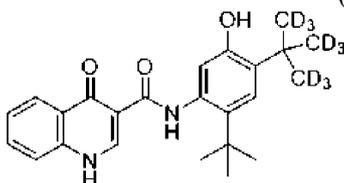
(i) соединения II



(ii) соединения III или соединения III-d



(соединение III)



(соединение III-d),

(iii) соединения IV



и фармацевтически приемлемых солей любого из вышеперечисленных.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что по меньшей мере одно соединение, выбранное из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в одной композиции по меньшей мере с одним соединением, выбранным из соединения II, соединения III, соединения III-d, соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей.

3. Способ по п.1, отличающийся тем, что 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, соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей, вводят в отдельных композициях.

4. Способ по п.1, отличающийся тем, что 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, соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей.

5. 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 од-





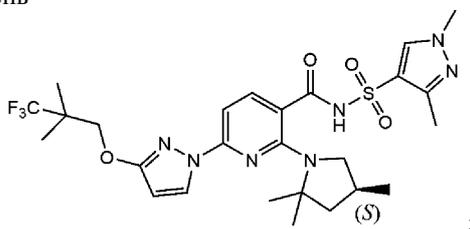
III вводят указанному пациенту, и причем (а) соединение I включено в первую фармацевтическую композицию и соединение II и соединение III содержатся во второй фармацевтической композиции; или (b) соединение I включено в первую фармацевтическую композицию и соединение II, и соединение III-d содержатся во второй фармацевтической композиции.

46. Способ по п.45, отличающийся тем, что (i) указанная вторая фармацевтическая композиция содержит половину суточной дозы соединения III и другую половину суточной дозы соединения III вводят указанному пациенту в третьей фармацевтической композиции; или (ii) указанная вторая фармацевтическая композиция содержит половину суточной дозы соединения III-d и другую половину суточной дозы соединения III-d вводят указанному пациенту в третьей фармацевтической композиции.

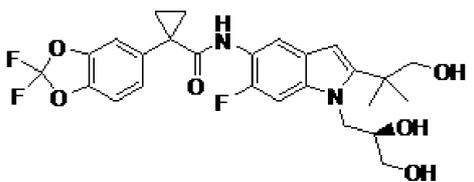
47. Способ по любому из пп.1-41, отличающийся тем, что соединение I, соединение II и соединение III вводят указанному пациенту, и причем (а) соединение I и соединение III содержатся в первой фармацевтической композиции, и соединение II содержится во второй фармацевтической композиции; или (b) соединение I и соединение III-d содержатся в первой фармацевтической композиции и соединение II содержится во второй фармацевтической композиции.

48. Способ лечения муковисцидоза, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом

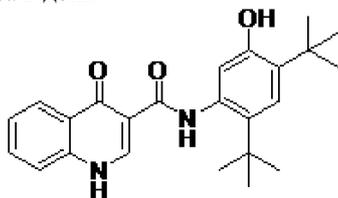
200 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей один раз в день



и 100 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей один раз в день



и 150 мг на дозу по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей два раза в день



(соединение III).

49. Способ по любому из пп.1-48, отличающийся тем, что пациент является гетерозиготным по F508del и любой другой CF-вызывающей мутации.

50. Фармацевтическая композиция, содержащая от 10 до 900 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей.

51. Фармацевтическая композиция по п.50, отличающаяся тем, что композиция содержит от 80 до 400 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей.

52. Фармацевтическая композиция по п.50, отличающаяся тем, что композиция содержит от 120 до 240 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей.

53. Фармацевтическая композиция по п.50, отличающаяся тем, что композиция содержит от 160 до 320 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей.

54. Фармацевтическая композиция по п.50, отличающаяся тем, что композиция содержит от 80 до 360 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей.

55. Фармацевтическая композиция по п.50, отличающаяся тем, что композиция содержит 40 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей.

56. Фармацевтическая композиция по п.50, отличающаяся тем, что композиция содержит 50 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей.

57. Фармацевтическая композиция по п.50, отличающаяся тем, что композиция содержит 80 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей.

58. Фармацевтическая композиция по п.50, отличающаяся тем, что композиция содержит 100 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей.

59. Фармацевтическая композиция по п.50, отличающаяся тем, что композиция содержит 200 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения I и его фармацевтически приемлемых солей.

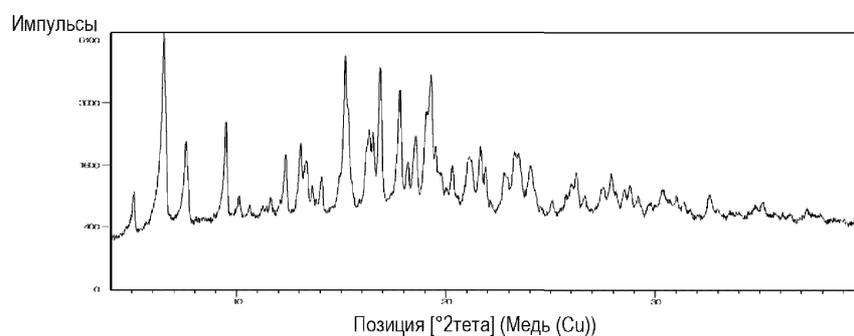
60. Фармацевтическая композиция по любому из пп.50-59, дополнительно содержащая от 25 до 200 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения II и его фармацевтически приемлемых солей.

61. Фармацевтическая композиция по любому из пп.50-60, дополнительно содержащая

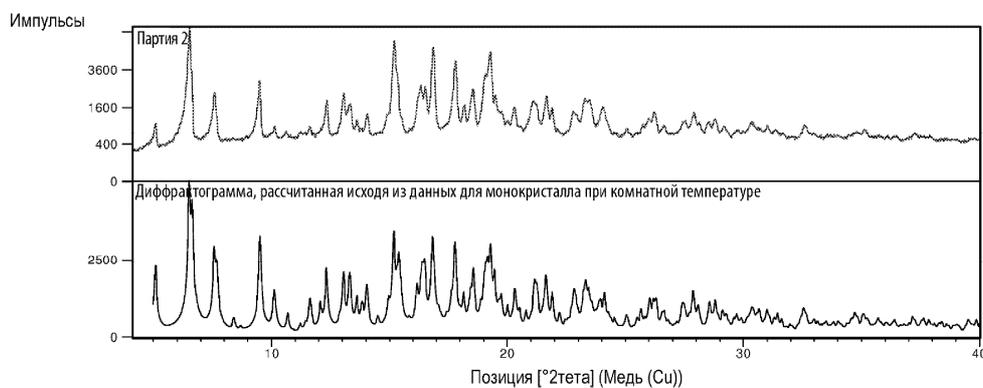
(а) от 50 до 600 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III и его фармацевтически приемлемых солей; или

(б) от 50 до 400 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения III-d и его фармацевтически приемлемых солей.

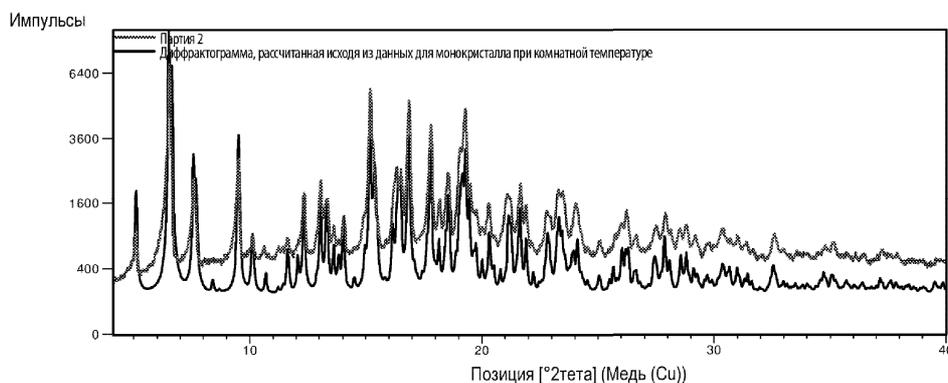
62. Фармацевтическая композиция по любому из пп.50-59, дополнительно содержащая от 100 до 1000 мг по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединения IV и его фармацевтически приемлемых солей.



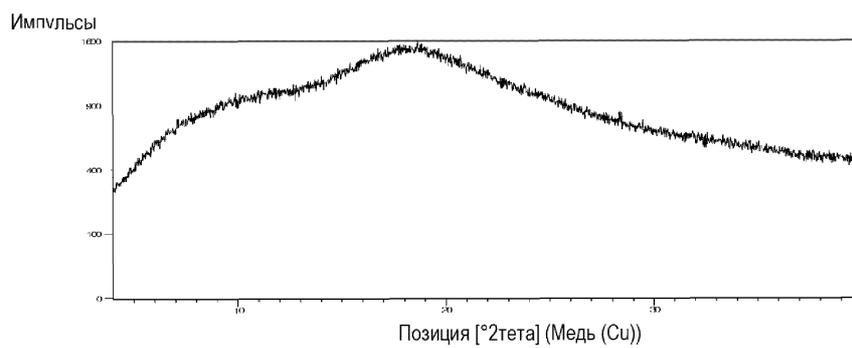
Фиг. 1



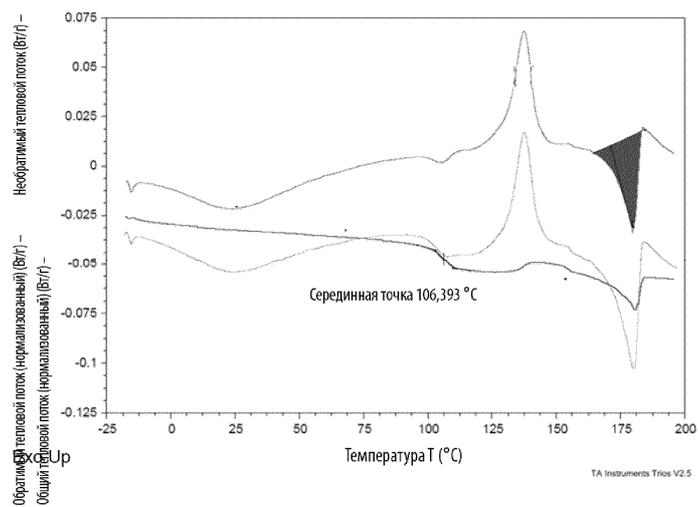
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5

Мутация кДНК Название	Мутация Белок Название	Мутация Унаследованная Название
c.1A>G	p.? <sup>?</sup> (неизвестно)	M1V
c.54- 5940_273+10250de l21kb	p.Ser18ArgfsX16	CFTRdele2,3
c.91C>T	p.Arg31Cys	R31C
c.115C>T	p.Gln39X	Q39X
c.137C>A	p.Ala46Asp	A46Q
c.165-1G>A	Название белка отсутствует	297-1G->A
c.166G>A	p.Glu56Lys	E56K
c.174_175insA	p.Arg59LysfsX10	306insA
c.178G>T	p.Glu60X	E60X
c.200C>T	p.Pro67Leu	P67L
c.220C>T	p.Arg74Trp	R74W
c.223C>T	p.Arg75X	R75X
c.224G>A	p.Arg75Gln	R75Q
c.254G>A	p.Gly85Glu	G85E
c.262_263delTT	p.Leu88IlefsX22	394delTT
c.273+1G>A	Название белка отсутствует	405+1G->A
c.274-1G>A	Название белка отсутствует	406-1G->A
c.274G>A	p.Glu92Lys	E92K
c.274G>T	p.Glu92X	E92X
c.292C>T	p.Gln98X	Q98X
c.313delA	p.Ile105SerfsX2	444delA
c.325_327delTATins G	p.Tyr109GlyfsX4	457TAT->G
c.328G>C	p.Asp110His	D110H
c.349C>T	p.Arg117Cys	R117C
c.350G>A	p.Arg117His	R117H
c.366T>A	p.Tyr122X	Y122X
c.442delA	p.Ile148LeufsX5	574delA
c.443T>C	p.Ile148Thr	I148T

Мутация кДНК Название	Мутация Белок Название	Мутация Унаследованная Название
c.489+1G>T	Название белка отсутствует	621+1G->T
c.531delT	p.Ile177MetfsX12	663delT
c.532G>A	p.Gly178Glu	G178R
c.543_546delTAGT	p.Leu183PhefsX5	675del4
c.579+1G>T	Название белка отсутствует	711+1G->T
c.579+3A>G	Название белка отсутствует	711+3A->G
c.579+5G>A	Название белка отсутствует	711+5G->A
c.580-1G>T	Название белка отсутствует	712-1G->T
C.59SOT	p.His199Tyr	H199Y
C.613CM	p.Pro205Ser	P205S
c.617T>G	p.Leu20GTrp	L206W
C.6580T	p.Gln220X	Q220X
c.580T>G	p.Leu227Arg	L227R
c.720_741delAGGG AGAATGATGATGAA GTAC	p.Gly241GlufsX13	852del22
c.828C>A	p.Cys276X	C276X
c.948delT	p.Phe316LeufsX1 2	1078delT
c.988G>T	p.Gly330X	G330X
c.1000C>T	p.Arg334Trp	R334W
c.1007T>A	p.Ile336Lys	I336K
c.1013C>T	p.Thr338Ele	T338I
c.1021T>C	p.Ser341Pro	S341P
c.1022_1023insTC	p.Phe342HisfsX2 8	1154insTC
c.1040G>A	p.Arg347His	R347H
c.1040G>C	p.Arg347Pro	R347P
c.1055G>A	p.Arg352Gln	R352Q
c.[1075C>A; 10799C> A]	p.[Gln359Lys;Thr 360Lys]	Q359K/T360K
c.1081delT	p.Trp361GlyfsX8	1213delT
c.1116+1G>A	Название белка отсутствует	1248+1G->A
c.1127_1128insA	p.Gln378AlafsX4	1259insA
c.1153_1154insAT	p.Asn386IlefsX3	1288insTA

Мутация кДНК Название	Мутация Белок Название	Мутация Унаследованная Название
c.1202G>A c.1203G>A	или p.Trp401X	W401X
c.1209+1G>A	Название белка отсутствует	1341+1G->A
c.1210-12[5]	Название белка отсутствует	5T
c.1210-12[7]	Название белка отсутствует	7T
c.1240C>T	p.Gln414X	Q414X
c.1329_1330insAGA T	p.Ile444ArgfsX3	1461ins4
c.1340delA	p.Lys447ArgfsX2	1471delA
c.1364C>A	p.Ala455Glu	A455E
c.1393-1G>A	Название белка отсутствует	1525-1G->A
c.1397C>A c.1397C>G	или p.Ser466X	S466X
c.1400T>C	p.Leu467Pro	L467P
c.1408A>G	p.Met470Val	M470V
c.1418delG	p.Gly473GlufsX54	1548delG
c.1466C>A	p.Ser489X	S489X
c.1475C>T	p.Ser492Phe	S492F
c.1477C>T	p.Gln493X	Q493X
c.1519_1521delATC	' p.Ile507del	I507del
c.1521_1523delCTT	p.Phe508del	F508del
c.1545_1546delTA	p.Tyr515X	1677delTA
c.1558G>T	p.Val520Phe	V520F
c.1573C>T	p.Gln525X	Q525X
c.1585-8G>A	Название белка отсутствует	1717-8G->A
c.1585-1G>A	Название белка отсутствует	1717-1G->A
c.1624G>T	p.Gly542X	G542X
c.1645A>C c.1G47T>G	или p.Ser549Arg	S549R
c.1646G>A	p.Ser549Asn	S549N
c.1650delA	p.Gly551ValfsX8	1782delA
c.1651G>A	p.Gly551Ser	G551S

Мутация кДНК Название	Мутация Белок Название	Мутация Унаследованная Название
c.1652G>A	p.Gly551Asp	G551D
c.1654C>T	p.Gln552X	Q552X
c.1657C>T	p.Arg553X	R553X
c.1673T>C	p.Leu558Ser	L558S
c.1675G>A	p.Ala559Thr	A559T
c.1679G>A	p.Arg560Lys	R560K
c.1679G>C	p.Arg560Thr	R560T
c.1679+1G>C	Название белка отсутствует	1811+1G->C
c.1679+1.6kbA>G	Название белка отсутствует	1811+1.6kbA->G
c.1680-1G>A	Название белка отсутствует	1812-1G->A
c.1682C>A	p.Ala561Glu	A561E
c.1692delA	p.Asp565MetfsX7	1824delA
c.1705T>G	p.Tyr569Asp	Y569D
c.1727G>C	p.Gly576Ala	G576A
c.1736A>G	p.Asp579Gly	D579G
c.1753G>T	p.Glu585X	E585X
c.1766+1G>A	Название белка отсутствует	1898+1G->A
c.1766+1G>C	Название белка отсутствует	1898+1G->C
c.1766+3A>G	Название белка отсутствует	1898+3A->G
c.1841A>G	p.Asp614Gly	D614G
c.1923_1931del9ins	p.Ser641ArgfsX5	2055del9->A
c.1973_1985del13insAGAAA	p.Arg658 LysfsX4	2105-2117del13insAGAAA
c.1986_1989delAAC T	p.Thr663ArgfsX8	2118del4
c.2002C>T	p.Arg668Cys	R668C
c.2012delT	p.Leu671X	2143delT
c.2051_2052delAAinsG	p.Lys684SerfsX38	2183AA->G+
c.2051_2052delAAinsG	p.Lys684SerfsX38	2183delAA->G#

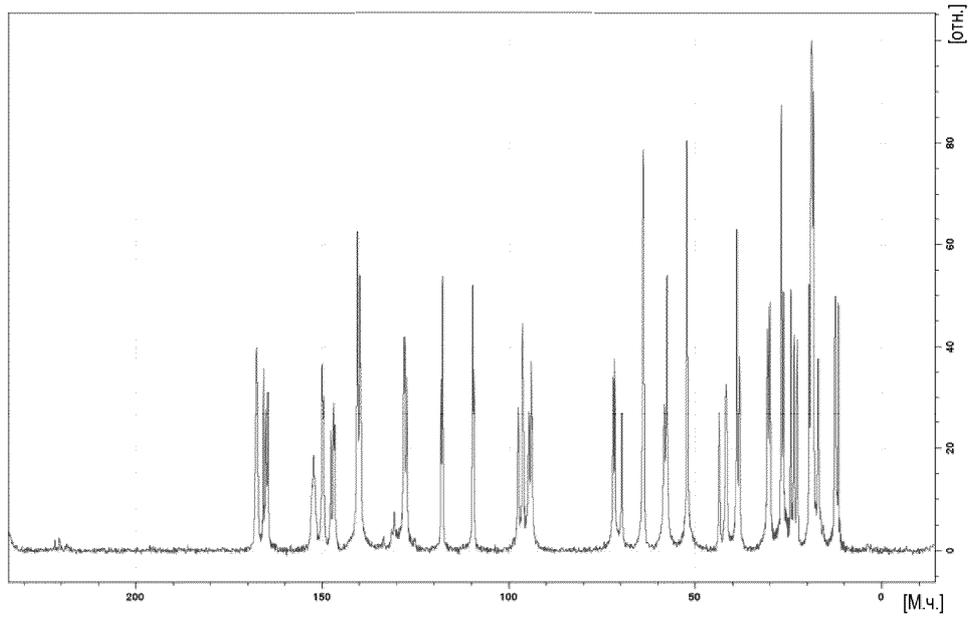
Мутация кДНК Название	Мутация Белок Название	Мутация Унаследованная Название
c.2052_2053insA	p.Gln685Th rfsX4	2184insA
c.2052delA	p.Lys684AsnfsX38	2184delA
c.21250T	p.Arg709X	R709X
c.2128A>T	p.Lys710X	K710X
c.2175_2176insA	p.Glu726ArgfsX4	2307insA
c.2195T>G	p.Leu732X	L732X
c.2215delG	p.Val739TyrfsX16	2347delG
c.2260G>A	p.Val754Met	V754M
c.2290C>T	p.Arg764X	R764X
c.2353C>T	p.Arg785X	R785X
c.2374C>T	p.Arg792X	R792X
c.2424_2425insAT	p.Ser809IlefsX13	2556insAT
c.2453delT	p.Leu818TrpfsX3	2585delT
c.2462_2463delGT	p.Ser821ArgfsX4	Название белка отсутствует
c.2464G>T	p.Glu822X	E822X
c.2490+1G>A	Название белка отсутствует	2622+1G->A
c.2491G>T	p.Glu831X	E831X
c.2537G>A или c.2538G>A	p.Trp846X	W846X
c.25470A	p.Tyr849X	Y849X
c.2551C>T	p.Arg851X	R851X
c.2583delT	p.Phe861LeufsX3	2711delT
c.2657+2_2657+3in sA	Название белка отсутствует	2789+2insA
c.2657+5G>A	Название белка отсутствует	2789+5G->A
c.2658-1G>C	Название белка отсутствует	2790-1G->C
c.2668C>T	p.Gln890X	Q890X
c.2735C>A	p.Ser912X	S912X
c.2737_2738insG		2869insG
c.2739T>A	p.Tyr913X	Y913X
c.2764_2765insAG	p.Val922GlufsX2	2896insAG
c.2780T>C	p.Leu927Pro	L927P
c.2834C>T	p.Ser945Leu	S945L

Мутация кДНК Название	Мутация Белок Название	Мутация Унаследованная Название
c.2875delG	p.Ala959HisfsX9	3007delG
c.2908G>C	p.Gly970Arg	G970R
c.2930C>T	p.Ser977Phe	S977F
c.2988G>A	Название белка отсутствует	3120G->A
c.2988+1G>A	Название белка отсутствует	3120+1G->A
c.2989- 977_3367+248del	Название белка отсутствует	3121- 977_3499+248 del2515
c.2989-1G>A	Название белка отсутствует	3121-1G->A
c.2991G>C	p.Leu997Phe	L997F
c.3002_3003delTG	p.Val1001AspfsX4 5	3132delTG
c.3080T>C	p.Ile1027Thr	I1027T
c.3140-26A>G	Название белка отсутствует	3272-26A->G
c.3154T>G	p.Phe1052Val	F1052V
c.3160C>G	p.His1054Asp	H1054D
c.3181G>C	p.Gly1061Arg	G1061R
c.3194T>C	p.Leu1065Pro	L1065P
c.3196C>T	p.Arg1066Cys	R1066C
c.3197G>A	p.Arg1066His	R1066H
c.3205G>A	p.Gly1069Arg	G1069R
c.3208C>T	p.Arg1070Trp	R1070W
c.3209G>A	p.Arg1070Gln	R1070Q
c.3222T>A	p.Phe1074Leu	F1074L
c.3230T>C	p.Leu1077Pro	L1077P
c.3266G>A	p.Trp1089X	W1089X
c.3276C>A c.3276C>G	или p.Tyr1092X	Y1092X
c.3302T>A	p.Met1101Lys	M1101K
c.3310G>T	p.Glu1104X	E1104X
c.3454G>C	p.Asp1152His	D1152H
c.3472C>T	p.Arg1158X	R1158X
c.3484C>T	p.Arg1162X	R1162X

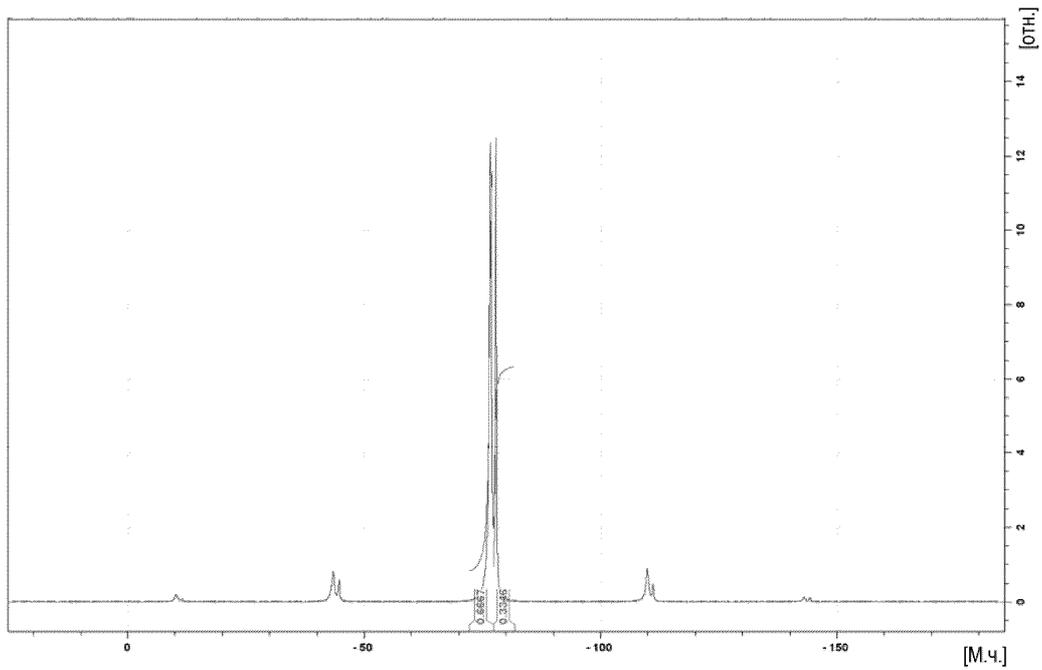
Мутация кДНК Название	Мутация Белок Название	Мутация Унаследованная Название
c.3485G>T	p.Arg1162Leu	R1162L
c.3528delC	p.Lys1177SerfsX1 5	3659delC
c.3535_3536insTCA A	p.Thr1179IlefsX1 7	3667ins4
c.3587C>G	p.Ser1196X	S1196X
c.3605delA	p.Asp1202AlafsX 9	3737delA
c.3611G>A или c.3612G>A	p.Trp1204X	W1204X
c.3659delC	p.Thr1220LysfsX8	3791delC
c.3691delT	p.Ser1231ProfsX4	3821delT
c.3700A>G	p.Ile1234Val	I1234V
c.3705T>G	p.Ser1235Arg	S1235R
c.3717+12191C>T	Название белка отсутствует	3849+10kbC->T
c.3715-1G>A	Название белка отсутствует	3850-1G->A
c.3731G>A	p.Gly1244Glu	G1244E
c.3744delA	p.Lys1250ArgfsX9	3876delA
c.3752G>A	p.Ser1251Asn	S1251N
c.3763T>C	p.Ser1255Pro	S1255P
c.37640A	p.Ser1255X	S1255X
c.3773_3774insT	p.Leu1258PhefsX 7	3905insT
c.3808G>A	p.Asp1270Asn	D1270N
c.3346G>A	p.Trp1252X	W1282X
c.3873+1G>A	Название белка отсутствует	4005+1G->A
c.3883delA	p.Ile1295PhefsX3 3	4015delA
c.3884_3885insT	p.Ser1297PhefsX 5	4016insT
c.3909C>G	p.Asn1303Lys	N1303K
c.3937C>T	p.Gln1313X	Q1313X
c.3964- 78_4242+577del	NULL	CFTRdele22,23

Мутация кДНК Название	Мутация Белок Название	Мутация Унаследованная Название
c.4046G>A	p.Gly1349Asp	G1349D
c.4077_4080delTGT TinsAA	Название белка отсутствует	4209TGTT->AA
c.4111G>T	p.Glu1371X	E1371X
c.4196_4197delTC	p.Cys1400X	4326delTC
c.4234C>T	p.Gln1412X	Q1412X
c.4242+1G>T	Название белка отсутствует	4374+1G->T
c.4251delA	p.Glu1418ArgfsX 14	4382delA
c.4296_4297insGA	p.Ser1435GlyfsX 4	4428insGA

Фиг. 6



Фиг. 7



Фиг. 8

