



MD/EP 3551622 T2 2021.03.31

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3551622 (13) T2

(51) Int. Cl.: C07D 401/14 (2006.01.01)
C07D 401/04 (2006.01.01)
C07D 231/20 (2006.01.01)
A61K 31/455 (2006.01.01)
A61P 11/00 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

(21) Numărul de depozit: e 2019 1168
(22) Data de depozit: 2017.12.08
(96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 17826629.2, 2017.12.08
(97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3551622, 2019.10.16
(31) Numărul cererii prioritare: 201662432537 P
(32) Data de depozit a cererii prioritare: 2016.12.09
(33) Țara cererii prioritare: US

(49) Data publicării traducerii fascicului de brevet european validat: BOPI nr. 03/2021, 2021.03.31

(80) Data publicării mențiunii eliberării de către OEB: EPB nr. 41/2020, 2020.10.07

(82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 11/2019, 2019.11.30

(71) Solicitant: VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED, US

(72) Inventatori: ABELA Alexander Russell, US; ALCACIO Timothy, US; ANDERSON Corey, US; ANGELL Paul Timothy, US; BAEK Minson, US; CLEMENS Jeremy J., US; CLEVELAND Thomas, US; FERRIS Lori Ann, US; GROOTENHUIS Peter Diederik Jan, US; GROSS Raymond Stanley, US; GULEVICH Anton, US; HADIDA RUAH Sara Sabina, US; HSIA Clara Kuang-Ju, US; HUGHES Robert M., US; JOSHI Pramod Virupax, US; KANG Ping, US; KESHAVARZ-SHOKRI Ali, US; KHATUYA Haripada, US; KRENITSKY Paul John, US; MCCARTNEY Jason, US; MILLER Mark Thomas, US; PARASELLI Prasuna, US; PIERRE Fabrice Jean Denis, US; SHI Yi, US; SHRESTHA Muna, US; SIESEL David Andrew, US; STAVROPOULOS Kathy, US; TERMIN Andreas P., US; UY Johnny, US; VAN GOOR Fredrick F., US; YOUNG Tomothy John, US; ZHOU Jinglan, US

(73) Titular: VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED, US

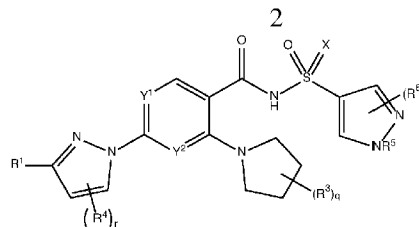
(74) Mandatar autorizat: PARASCA Dumitru

(54) Modulator al regulatorului conductanței transmembranare în fibroză chistică, compoziții farmaceutice, metode de tratament și procedeu pentru fabricarea modulatorului

(57) Rezumat:

1

Sunt divulgați compuși cu Formula (I):



(I),

MD/EP 3551622 T2 2021.03.31

săruri acceptabile farmaceutic ale acestora, derivați deuterati ai oricăroră din cei anteriori, și metaboliți ai oricăroră din cei anteriori. Sunt de asemenea divulgate compoziții farmaceutice care ii cuprind pe aceștia, metode de tratare a fibrozei cistice care ii utilizează pe aceștia, și

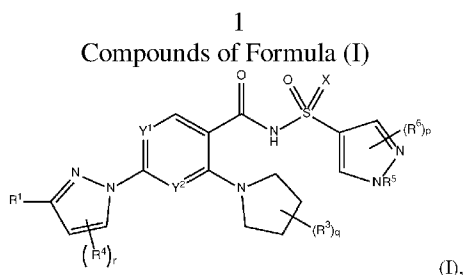
metode de fabricare ale acestora. Sunt de asemenea divulgate forme ale stării solide a Compusului 1 și săruri sau solvați ai acestuia.

Revendicări: 10

Figuri: 17

(54) Modulator of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, pharmaceutical compositions, methods of treatment, and process for making the modulator

(57) Abstract:



pharmaceutically acceptable salts thereof, deuterated derivatives of any of the foregoing, and metabolites of any of the foregoing are

2

disclosed. Pharmaceutical compositions comprising the same, methods of treating cystic fibrosis using the same, and methods for making the same are also disclosed. Also disclosed are solid state forms of Compound 1 and salts and solvates thereof.

Claims: 10

Fig.: 17

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)**

5 In acest document este divulgat un modulator al regulatorului conductanței transmembranare în fibroză chistică (CFTR), compoziții farmaceutice care conțin modulatorul, utilizările lor în metode de tratament pentru fibroza chistică, și un procedeu pentru fabricarea modulatorului.

Fibroza chistică (CF) este o boală genetică recesivă care afectează aproximativ 70000 copii și adulți în întreaga lume. În ciuda progreselor în tratamentul CF, nu există vindecare.

10 La pacienții cu CF, mutațiile în CFTR exprimate endogen în epiteliul respirator conduc la Scăderea transportului de anioni rezultată contribuie la ameliorarea acumulării mucusului în plămâni și la infecțiile microbiene care o însoțesc care în final cauzează moartea pacienților cu CF. În plus față de boala respiratorie, pacienții cu CF suferă de obicei de probleme gastrointestinale și insuficiență pancreatică care, dacă este lăsată netratată, conduce la moarte. În plus, majoritatea bărbaților cu fibroză chistică sunt infertili, și fertilitatea este redusă printre femeile cu fibroză chistică.

Analiza secvenței genelor CFTR a dezvăluit o varietate de mutații care determină boli (Cutting, G. R. et al. (1990) Nature 346:366-369; Dean, M. et al. (1990) Cell 61:863-870; și Kerem, B-S. et al. (1989) Science 245:1073-1080; Kerem, B-S et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. SUA 87:8447-8451). Până în prezent, au fost identificate mai mult de 2000 de mutații în gena CF; în prezent, baza de date CFTR2 conține informații doar despre 322 dintre aceste mutații identificate, cu suficiente dovezi pentru a defini 281 mutații ca fiind cauzatoare ale bolii. Cea mai prevalentă mutație care determină boala este o deleție a fenilalaninei la poziția 508 din secvența de aminoacizi a CFTR, și este numită în mod obișnuit mutația F508del. Această mutație are loc în 25 aproximativ 70% din cazurile de fibroză chistică și este asociată cu boală severă.

Deleția restului 508 din CFTR împiedică proteina în formare să se plieze corect. Acest lucru are ca rezultat incapacitatea proteinei mutante de a ieși din reticulul endoplasmatic (ER) și de a circula către membrana plasmatică. Ca rezultat, numărul de canale CFTR pentru transportul anionic prezente în membrană este mult mai mic decât cel observat în celulele care exprimă CFTR de tip sălbatic, adică CFTR care nu are mutații. În plus față de circulația alterată, mutația are ca rezultat intrarea defectă a canalului. Împreună, numărul redus de canale din membrană și intrarea defectă duc la transportul redus al anionilor și fluidelor de-a lungul epiteliului. (Quinton, P. M. (1990), FASEB J. 4: 2709-2727). Canalele care sunt defecte din cauza mutației F508del sunt încă funcționale, deși mai puțin funcționale decât canalele CFTR de tip sălbatic. (Dalemans et al. (1991), Nature Lond. 354: 526-528; Pasyk și Foskett (1995), J. Cell. Biochem. 270: 12347-50). În plus față de F508del, alte mutații în CFTR care provoacă boli care conduc la trafic, sinteză și/sau închidere defectuoasă a canalului, ar putea fi reglate în sus sau în jos pentru a modifica secreția de anioni și a modifica evoluția și/sau severitatea bolii.

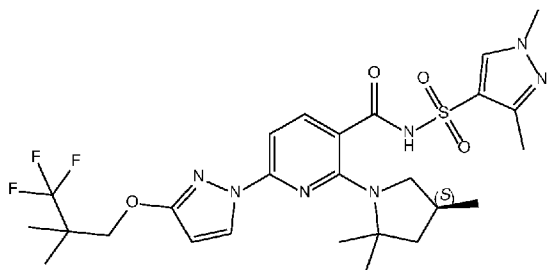
CFTR este un canal de anioni mediat de AMPc/ATP care este exprimat într-o varietate de tipuri de celule, incluzând celule epiteliale absorbitive și secretoare, unde reglează fluxul de anioni prin membrană, precum și activitatea altor canale de ioni și proteine. În celule epiteliale, funcționarea normală a CFTR este esențială pentru întreținerea transportului de electrolit prin corp, incluzând țesutul respirator și digestiv. CFTR este compus din aproximativ 1480 aminoacizi care codifică o proteină care este făcută dintr-o repetare în tandem de domenii transmembranare, 45 fiecare conținând șase helixuri transmembrane și un domeniu de legare a nucleotidei. Cele două domenii transmembranare sunt legate printr-un domeniu regulator (R) larg, polar, cu multiple situsuri de fosforilare care reglează activitatea canalului și traficul celular.

Transportul clorurii are loc prin activitatea coordonată a ENaC și CFTR prezent pe membrana apicală și pompa Na⁺-K⁺-ATPază și canale Cl⁻ exprimate pe suprafața bazolaterală a celulei. Transportul activ secundar al clorurii de la partea luminală conduce la acumularea clorurii intracelular, care apoi poate părăsi pasiv celula prin canale Cl⁻, conducând la un transport vectorial. Aranjamentul de co-transportor Na⁺/2Cl⁻/K⁺, pompă Na⁺-K⁺-ATPază și canalele de K⁺ ale membranei bazolaterale pe suprafața bazolaterală și CFTR pe partea luminală coordonează secreția de clorură prin CFTR pe partea luminală. Deoarece, probabil, apa nu se transportă niciodată ea 55 însăși în mod activ, curgerea ei peste epiteliu depinde de mici gradienti osmotici transepiteliali generați de fluxul masiv de sodiu și clorură.

Corespunzător, există o nevoie de noi tratamente ale bolilor mediate de CFTR.

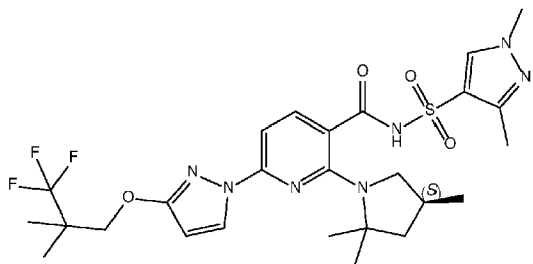
Invenția furnizează un compus având formula următoare:

4



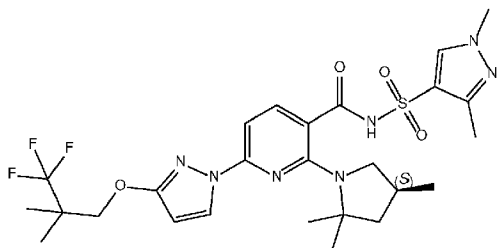
o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre aceștia.

- 5 Prezenta invenție furnizează de asemenea compoziții farmaceutice cuprinzând cel puțin un compus având formula următoare:



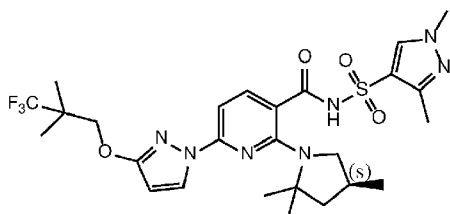
- 10 o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori, compoziții care pot include în plus cel puțin un ingredient farmaceutic activ și/sau cel puțin un purtător suplimentar. Compușii invenției, o sare acceptabilă farmaceutic a acestora, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori pot fi utilizați în metode pentru tratarea bolii fibroză chistică mediată de CFTR cuprinzând administrarea cel puțin a unuia din compușii invenției, a unei sări acceptabile farmaceutic a acestora, sau a unui derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori,
- 15 opțional ca parte a unei compoziții farmaceutice cuprinzând cel puțin un component suplimentar, la un subiect care are nevoie de aceasta.

Prezenta invenție furnizează de asemenea un compus având formula următoare:



- 20 o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori, sau o compoziție farmaceutică a invenției, pentru utilizare în metode pentru tratarea bolii fibroză chistică mediată de CFTR. Compusul invenției, o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori, sau o compoziție farmaceutică a invenției, poate fi administrat cu (R)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(1-(2,3-dihidroxipropil)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)-1H-indol-5-il)ciclopropancarboxamidă (Compus II), și N-[2,4-bis(1,1-dimetiletil)-5-hidroxifenil]-1,4-dihidro-4-oxochinolin-3-carboxamidă (Compus III),
- 25 opțional ca parte a cel puțin unei compoziții farmaceutice cuprinzând cel puțin o componentă suplimentară, pentru un pacient care are nevoie de aceasta.

- 30 Un compus al invenției este Compusul 1:



N-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă.

Prezenta invenție furnizează de asemenea compoziții farmaceutice ale Compusului 1, și forme ale acestuia, care pot include suplimentar cel puțin un ingredient farmaceutic activ și cel puțin un purtător, și utilizarea lor în metode pentru tratarea bolii fibroză chistică mediată de CFTR, cuprinzând administrarea Compusului 1 la un subiect care are nevoie de aceasta. De asemenea este divulgat un procedeu de realizare a Compusului 1.

Scurtă descriere a desenelor

FIG. 1 prezintă structurile exemplelor nelimitative de noi compuși divulgați aici.

FIG. 2 este o XRPD a Formei A a Compusului 1.

FIG. 3 este o XRPD experimentală a Formei A a Compusului 1 (partea superioară) în comparație cu o XRD calculată (la bază), care este calculată de la datele unui monocristal.

FIG. 4 este o suprapunere a XRPD experimentală cu cea calculată a Formei A a Compusului 1 din FIG. 3.

FIG. 5 este o XRPD a unei dispersii uscate prin pulverizare (SDD) de 50 % în greutate Compus 1 cu HPMCAS-HG.

FIG. 6 este un spectru MDSC al unei SDD de 50 % în greutate Compus 1 cu HPMCAS-HG.

FIG. 7 este o listă reprezentativă a mutațiilor CFTR.

FIG. 8 este un spectru RMN carbon-13 al Formei A a Compusului 1 în stare solidă, cu rotire MAS la 12,5 kHz, în raport cu adamantan 29,5 ppm, la 275 K. Spectrul a fost luat pe un spectrometru Bruker 400MHz WB SS RMN; BH085908; mijloc fix V019431 (consolă), V015741 (magnet).

FIG. 9 este un spectru RMN Fluor-19 al Formei A a Compusului 1 în stare solidă, cu rotire MAS la 12,5 kHz, în raport cu adamantan 29,5 ppm, la 275 K. Spectrul a fost luat pe un spectrometru Bruker 400MHz WB SS RMN; BH085908; mijloc fix V019431 (consolă), V015741 (magnet).

FIG. 10 prezintă o reprezentare grafică cu bile și bare a Formei A a Compusului 1.

FIG. 11 prezintă un grafic TGA al Formei cristaline A a Compusului 1.

FIG. 12 prezintă un grafic de sorbție dinamică a vaporilor (DVS) al Formei cristaline A a Compusului 1.

FIG. 13 prezintă o difractogramă a razelor X pe pulbere a Formei cristaline M a Compusului 1.

FIG. 14 prezintă o difractogramă a razelor X pe pulbere a Formei cristaline E a Compusului 1.

FIG. 15 prezintă o difractogramă a razelor X pe pulbere a Formei cristaline X a unei sări de potasiu a Compusului 1.

FIG. 16 prezintă o difractogramă a razelor X pe pulbere a Formei cristaline Y a unei sări de sodiu a Compusului 1.

FIG. 17 prezintă o difractogramă a razelor X pe pulbere a Formei cristaline P2 a Compusului 1.

Definiții

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „alchil” se referă la o hidrocarbură alifatică ramificată sau neramificată saturată conținând atomi de carbon (cum ar fi, de exemplu, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, sau 20 atomi de carbon). Grupările alchil pot fi substituite sau nesubstituite.

Termenul „alcoxi” așa cum s-a utilizat în acest document se referă la un alchil sau cicloalchil legat covalent la un atom de oxigen. Grupările alcoxi pot fi substituite sau nesubstituite.

Așa cum s-a utilizat în acest document, „cicloalchil” se referă la o grupare de hidrocarbură nearomatică ciclică, biciclică, triciclică, sau policiclică având 3 până la 12 atomi de carbon (cum ar fi, de exemplu 3-10 atomi de carbon). Grupările „cicloalchil” cuprind inele monociclice, biciclice, triciclice, în punte, fuzionate, și spiro, incluzând inele mono spiro și dispiro. Exemple nelimitative de grupări cicloalchil sunt ciclopropil, ciclobutil, ciclopentil, ciclohexil, adamantil, norbornil, și dispiro[2,0,2,1]heptan. Grupările cicloalchil pot fi substituite sau nesubstituite.

„Substituit”, indiferent dacă este sau nu precedat de termenul „opțional”, indică faptul că cel puțin un hidrogen din gruparea „substituită” este înlocuit cu un substituent. Dacă nu s-a indicat altfel, o grupare „substituită opțional” poate avea un substituent adecvat la fiecare poziție substituibilă a grupării, și când mai mult de o poziție din orice structură dată poate fi substituită cu mai mult de un substituent ales dintr-un grup specificat, substituentul poate fi fie același fie diferit la fiecare poziție.

Așa cum s-a utilizat în acest document, „derivat(ți) deuterat(ți)” înseamnă aceeași structură chimică, dar cu unul sau mai mulți atomi de hidrogen înlocuiți cu un atom de deuteriu.

Așa cum s-a utilizat în acest document, „CFTR” înseamnă regulator al conductanței transmembranare în fibroză chistică.

Așa cum s-a utilizat în acest document, „mutații” se poate referi la mutații în gena *CFTR* sau în proteina CFTR. O „mutație genetică *CFTR*” se referă la o mutație în gena *CFTR*, și o „mutație a proteinei CFTR” se referă la o mutație în proteina CFTR. Un defect sau o mutație genetică, sau o modificare în nucleotidele dintr-o genă conduce în general la o mutație în proteina CFTR translatată de la acea genă, sau o modificare(modificări) în cadru.

Termenul „F508del” se referă la o proteină CFTR mutantă adică, care nu are aminoacidul fenilalanină la poziția 508.

Așa cum s-a utilizat în acest document, un pacient care este „homozigot” pentru o anumită mutație genetică are aceeași mutație pe fiecare alelă.

Așa cum s-a utilizat în acest document, un pacient care este „heterozigot” pentru o anumită mutație genetică are această mutație pe o alelă, și o mutație diferită pe cealaltă alelă.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „modulator” se referă la un compus care crește activitatea unui compus biologic cum ar fi o proteină. De exemplu, un modulator CFTR este un compus care crește activitatea CFTR. Creșterea în activitate care rezultă de la un modulator CFTR include dar nu este limitată la compuși care corectează, potențează, stabilizează și/sau amplifică CFTR.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „corector CFTR” se referă la un compus care facilitează procesarea și circulația CFTR pentru a crește cantitatea de CFTR la suprafața celulei. Compușii cu Formulele (I), (II), (III), (IV), (V), și (VI) și Compusul II divulgați în acest document, și sărurile lor acceptabile farmaceutic, sunt corectori ai CFTR.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „potențiator al CFTR” se referă la un compus care crește activitatea canalului proteinei CFTR situat la suprafața celulei, rezultând un transport ionic îmbunătățit. Compusul III divulgat aici este un potențiator al CFTR.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „ingredient farmaceutic activ” („API”) se referă la un compus activ biologic.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „sare acceptabilă farmaceutică” se referă la o formă de sare a unui compus din această divulgare în care sarea este netoxică. Sărurile acceptabile farmaceutic ale compușilor din această divulgare includ pe cele adecvate, derivate din acizi și baze anorganice și organice. Sărurile acceptabile farmaceutic sunt bine cunoscute în domeniu. De exemplu, S. M. Berge, et al. descriu săruri acceptabile farmaceutic în detaliu în J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „amorf” se referă la un material solid care nu are ordine pe distanțe lungi în poziția moleculelor sale. Solidele amorfe sunt în general lichide supraîncălzite în care moleculele sunt aranjate în mod aleatoriu, astfel încât să nu existe un aranjament bine definit, de exemplu, împachetare moleculară și nici o ordine pe distanțe lungi. Solidele amorfe sunt în general izotropice, adică prezintă proprietăți similare în toate direcțiile și nu au puncte de topire definite. De exemplu, un material amorf este un material solid care nu are varf(uri) cristaline ascuțite caracteristice în tiparul său de difracție cu raze X (XRPD) (adică, nu este cristalin, după cum s-a determinat prin XRPD). În schimb, în tiparul său XRPD apar unul sau cateva maxime largi (de exemplu, halouri). Maximele largi sunt caracteristice pentru un solid amorf. Vezi, US 2004/0006237 pentru o comparație a XRPD-ului unui material amorf și unui material cristalin.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „substanțial amorf” se referă la un material solid care, pe distanțe lungi, are puțină ordine în poziția moleculelor sale, sau nu are ordine de loc. De exemplu, materialele substanțial amorfe au mai puțin de 15% cristalinitate (de exemplu, mai puțin de 10% cristalinitate sau mai puțin de 5% cristalinitate). Este de asemenea de notat că termenul 'substanțial amorf' include descriptorul, 'amorf', care se referă la materiale fără cristalinitate (0%).

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „dispersie” se referă la un sistem dispers în care o substanță, faza dispersată, este distribuită, în unități discrete, printre a doua substanță (fază continuă sau vehicul). Mărimea fazei dispersate poate varia considerabil (de exemplu, particule coloidale cu dimensiuni nanometrice, până la dimensiuni de mai mulți microni). În general, fazele dispersate pot fi solide, lichide sau gaze. În cazul unei dispersii solide, fazele dispersate și cele continue sunt ambele solide. În aplicații farmaceutice, o dispersie solidă poate include un medicament cristalin (fază dispersată) într-un polimer amorf (fază continuă); sau alternativ, un medicament amorf (fază dispersată) într-un polimer amorf (fază continuă). În unele realizări, o dispersie solidă include polimerul care constituie faza dispersată, și medicamentul care constituie faza continuă. Sau, o dispersie solidă include medicamentul care constituie faza dispersată, și polimerul care constituie faza continuă.

Termenii „pacient” și „subiect” sunt utilizați interschimbabil și se referă la un animal, inclusiv la oameni.

Termenii „doză eficientă” și „cantitate eficientă” sunt utilizați interschimbabil aici și se referă la acea cantitate dintr-un compus care produce efectul dorit pentru care el este administrat (de exemplu, îmbunătățirea CF sau a unui simptom de CF, sau atenuarea severității CF sau a unui simptom de CF). Cantitatea exactă dintr-o doză eficientă va depinde de scopul tratamentului, și va fi constatabilă de către un specialist în domeniu utilizând tehnici cunoscute (vezi, de exemplu, Lloyd (1999) The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding).

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenii „tratament”, „tratare”, și alții asemenea înseamnă, în general, îmbunătățirea FC sau a simptomelor sale sau diminuarea severității CF sau a simptomelor sale la un subiect. „Tratament”, așa cum s-a utilizat în acest document, include, dar nu este limitat la, următoarele: creștere ridicată a subiectului, creștere în greutate, reducerea mucusului în plămâni, funcție pancreatică și/sau hepatică îmbunătățită, reducerea infecțiilor toracice și/sau reducerea tusei sau a respirației dificile. Îmbunătățirile sau diminuarea severității oricăruia dintre aceste simptome pot fi ușor evaluate conform metodelor și tehnicilor standard cunoscute în domeniu.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul “în combinație cu”, când se face referire la doi sau mai mulți compuși, agenți, sau ingrediente farmaceutice active suplimentare, înseamnă administrarea a doi sau mai mulți compuși, agenți, sau ingrediente farmaceutice active la pacient înainte de, concurrent cu, sau ulterior unul față de celălalt.

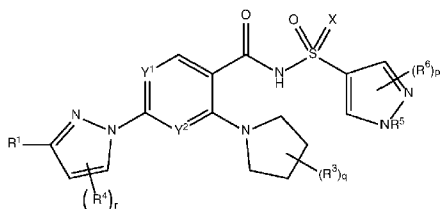
Termenii „circa” și „aproximativ”, când s-au utilizat în legătură cu doze, cantități, sau procente în greutate de ingrediente ale unei compoziții sau forme de dozare, includ valoarea unei doze, cantități, sau procente în greutate specificate sau a unui interval de doze, cantități, sau procente în greutate care este recunoscută de cineva având calificare obișnuită în domeniu că furnizează un efect farmacologic echivalent cu cel obținut de la doza, cantitatea, sau procentele în greutate specificate.

Compușii invenției, și Compuși II, III, IV, și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestora, și derivații lor deuterati descriși aici se pot administra în mod independent o dată pe zi, de două ori pe zi, sau de trei ori pe zi. În unele realizări, un compus al invenției, și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia, și derivații lor deuterati se administrează o dată pe zi. În unele realizări, compușii invenției, și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestora, și derivații lor deuterati se administrează de două ori pe zi. În unele realizări, cel puțin un compus ales dintre Compusul II și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia este administrat o dată pe zi. În unele realizări, cel puțin un compus ales dintre Compus II și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia este administrat de două ori pe zi. În unele realizări, cel puțin un compus ales dintre Compusul III și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia este administrat o dată pe zi. În unele realizări, cel puțin un compus ales dintre Compus III și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia este administrat de două ori pe zi. În unele realizări, cel puțin un compus ales dintre Compus IV și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia este administrat o dată pe zi. În unele realizări, cel puțin un compus ales dintre Compus IV și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia este administrat de două ori pe zi. În unele realizări, un derivat deuterat al Compusului II, III, și/sau IV sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia este utilizat în oricare dintre aceste realizări.

În unele realizări, se administrează zilnic 10 mg până la 1500 mg dintr-un compus divulgat aici, o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat sau o sare a unui astfel de compus.

Cineva având calificare obișnuită în domeniu ar recunoaște că, atunci când o cantitate dintr-un „compus sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia” este divulgată, cantitatea de formă de sare acceptabilă farmaceutic a compusului este cantitatea echivalentă cu concentrația de bază liberă a compusului. Se observă că, cantitățile de compuși divulgate aici, sau de săruri acceptabile farmaceutic ale acestora sunt pe baza formei de bază liberă. De exemplu, “10 mg din cel puțin un compus ales dintre compușii cu Formula (I) și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia” includ 10 mg dintr-un compus cu Formula (I) și o concentrație dintr-o sare acceptabilă farmaceutic a compușilor cu Formula (I) echivalentă la 10 mg de compuși cu Formula (I).

De asemenea în acest document sunt divulgați compuși cu Formula (I):

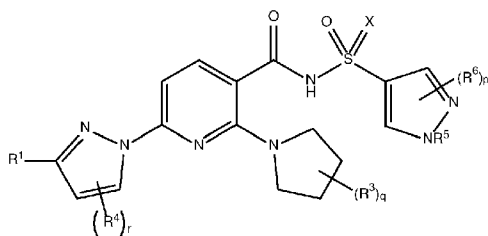


(I),

săruri acceptabile farmaceutic ale acestora, și derivați deuterati din oricare dintre cei anteriori, în care:

- ☐ unul dintre Y^1 și Y^2 este N și celălalt este CH;
- 5 ☐ X este ales dintre O, NH, și grupări N(alchil C_1-C_4);
- ☐ R^1 este $-(C(R^2)_2)_k-O-(C(R^2)_2)_mR^7$,
- ☐ fiecare R^2 este ales în mod independent dintre hidrogen, halogeni, ciano, hidroxil, grupări alcoxil C_1-C_2 , și grupări alchil C_1-C_2 substituite opțional cu unul sau mai mulți substituenți fiecare ales în mod independent dintre halogeni, hidroxil, și grupări cicloalchil C_3-5 substituite opțional
- 10 cu unul sau mai mulți substituenți, fiecare ales în mod independent dintre grupări alchil C_1-C_2 , grupări alchil C_1-C_2 halogenate, și halogeni;
- ☐ fiecare R^3 este ales în mod independent dintre grupări alchil C_1-C_4 substituite opțional cu una sau mai multe grupări hidroxil, sau opțional doi R^3 geminali, împreună cu atomul de carbon la care ei sunt atașați, formează un cicloalchil C_{3-4} ;
- 15 ☐ fiecare R^4 este ales în mod independent dintre halogeni;
- ☐ R^5 este ales dintre hidrogen și grupări alchil C_1-C_4 ;
- ☐ fiecare R^6 este ales în mod independent dintre halogeni, ciano, hidroxil, hidroximetil, grupări alcoxil C_1-C_2 , grupări alchil C_1-C_2 , și grupări alchil C_1-C_2 halogenate;
- ☐ R^7 este ales dintre hidrogen, halogeni, ciano, grupări alchil C_1-C_2 substituite opțional cu
- 20 unul sau mai mulți substituenți fiecare ales în mod independent dintre halogeni și hidroxil, și grupări cicloalchil C_3-C_{10} substituite opțional cu unul sau mai mulți substituenți, fiecare ales în mod independent dintre grupări alchil C_1-C_2 , grupări alchil C_1-C_2 halogenate, și halogeni;
- ☐ k este 0 sau 1;
- ☐ r este 0 sau 1;
- 25 ☐ m este 0, 1, 2, sau 3;
- ☐ p este 0, 1, sau 2; și
- ☐ q este 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, sau 8.

De asemenea în acest document sunt divulgați compuși cu Formula (II):



(II),

săruri acceptabile farmaceutic ale acestora, și derivați deuterati din oricare dintre cei anteriori, în care:

- ☐ X este ales dintre O, NH, și grupări N(alchil C_1-C_4);
- 35 ☐ R^1 este $-(C(R^2)_2)_k-O-(C(R^2)_2)_mR^7$,
- ☐ fiecare R^2 este ales în mod independent dintre hidrogen, halogeni, ciano, hidroxil, grupări alcoxil C_1-C_2 , și grupări alchil C_1-C_2 substituite opțional cu unul sau mai mulți substituenți C_3-5 fiecare ales în mod independent dintre halogeni, hidroxil, și grupări cicloalchil substituite opțional
- 40 cu unul sau mai mulți substituenți fiecare ales în mod independent dintre grupări alchil C_1-C_2 , grupări alchil C_1-C_2 halogenate, și halogeni;
- ☐ fiecare R^3 este ales în mod independent dintre grupări alchil C_1-C_4 substituite opțional cu una sau mai multe grupări hidroxil, sau opțional doi R^3 geminali, împreună cu atomul de carbon la care ei sunt atașați, formează un cicloalchil C_{3-4} ;
- ☐ fiecare R^4 este ales în mod independent dintre halogeni;
- 45 ☐ R^5 este ales dintre hidrogen și grupări alchil C_1-C_4 ;
- ☐ fiecare R^6 este ales în mod independent dintre halogeni, ciano, hidroxil, hidroximetil, grupări alcoxil C_1-C_2 , grupări alchil C_1-C_2 , și grupări alchil C_1-C_2 halogenate;
- ☐ R^7 este ales dintre hidrogen, halogeni, ciano, grupări alchil C_1-C_2 substituite opțional cu
- 50 unul sau mai mulți substituenți fiecare ales în mod independent dintre halogeni și hidroxi, și grupări cicloalchil C_3-C_{10} substituite opțional cu unul sau mai mulți substituenți fiecare ales în mod independent dintre grupări alchil C_1-C_2 , grupări alchil C_1-C_2 halogenate, și halogeni;
- ☐ k este 0 sau 1;
- ☐ r este 0 sau 1;
- ☐ m este 0, 1, 2, sau 3;

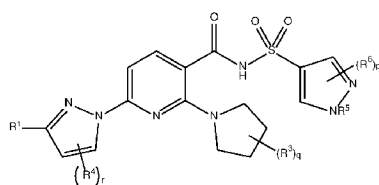
- ☐ p este 0, 1, sau 2; și
☐ q este 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, sau 8.

Cuprinși în sfera de aplicare a Formulelor(I) și (II) sunt compuși cuprinzând o grupare



- 5 (unde R' este H sau alchil C₁-C₄), adică, în care X este ales dintre grupări NH și N(alchil C₁-C₄) și săruri acceptabile farmaceutic ale acestora, și derivați deuterati din oricare dintre cei anteriori. În unele realizări, un compus având oricare dintre formulele structurale prezentate în FIG. 1 dar una dintre grupările (S=O) ale grupării sulfonamidă din fiecare formulă este înlocuită cu NH sau NR', sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori
 10 este cuprins, fie ca un amestec izomeric fie ca izomeri enantioîmbogățiți (de exemplu, ee >90%, ee >95%, sau ee >98%).

De asemenea în acest document sunt divulgați compuși cu Formula (III):



(III).

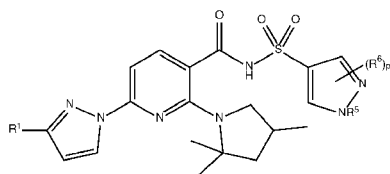
15

săruri acceptabile farmaceutic ale acestora, și derivați deuterati din oricare dintre cei anteriori, în care:

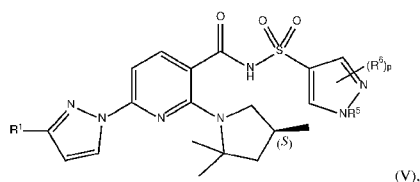
- ☐ **R¹** este -(C(R²)₂)_k-O-(C(R²)₂)_mR⁷,
☐ fiecare **R²** este ales în mod independent dintre hidrogen; halogeni; ciano; hidroxi; grupări alcoxi C₁-C₂; și grupări alchil C₁-C₂ substituite opțional cu unul sau mai mulți substituenți fiecare ales în mod independent dintre halogeni, hidroxi, și grupări cicloalchil C₃₋₅ substituite opțional cu unul sau mai mulți substituenți, fiecare ales în mod independent dintre grupări alchil C₁-C₂, grupări alchil C₁-C₂ halogenate, și halogeni;
☐ fiecare **R³** este ales în mod independent dintre grupări alchil C₁-C₄ substituite opțional cu una sau mai multe grupări hidroxil, sau opțional doi **R³** geminali, împreună cu atomul de carbon la care ei sunt atașați, formează un cicloalchil C₃₋₄;
☐ fiecare **R⁴** este ales în mod independent dintre halogeni;
☐ **R⁵** este ales dintre hidrogen și grupări alchil C₁-C₄;
☐ fiecare **R⁶** este ales în mod independent dintre halogeni, ciano, hidroxi, hidroxiometil, grupări alcoxi C₁-C₂, grupări alchil C₁-C₂, și grupări alchil C₁-C₂ halogenate;
☐ **R⁷** este ales dintre hidrogen, halogeni, ciano, grupări alchil C₁-C₂ substituite opțional cu unul sau mai mulți substituenți fiecare ales în mod independent dintre halogeni și hidroxi, și grupări cicloalchil C₃-C₁₀ substituite opțional cu unul sau mai mulți substituenți fiecare ales în mod independent dintre grupări alchil C₁-C₂, grupări alchil C₁-C₂ halogenate, și halogeni;
☐ k este 0 sau 1;
☐ r este 0 sau 1;
☐ m este 0, 1, 2, sau 3;
☐ p este 0, 1, sau 2; și
☐ q este 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, sau 8.

40

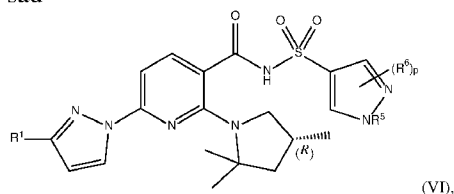
De asemenea în acest document sunt divulgați compuși cu Formula (IV):



(IV)



sau

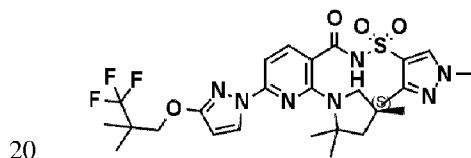


- 5 săruri acceptabile farmaceutic din oricare dintre cei anteriori, și derivați deuterati din oricare dintre cei anteriori,

în care:

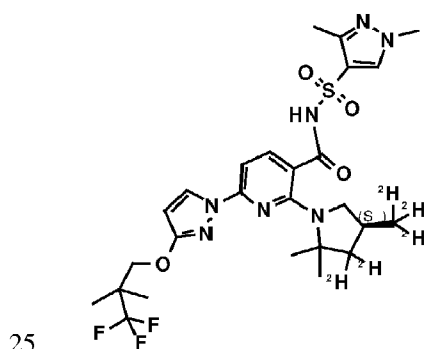
- ☐ R^1 este $-O-(CH_2)(C(R^2)_2)_{(m-1)}R^7$,
- ☐ fiecare R^2 este ales în mod independent dintre grupări alchil C_1-C_2 , OH, grupări alcoxi C_1-C_2 , și halogeni;
- 10 ☐ R^7 este ales dintre grupări alchil C_1-C_2 substituite opțional cu unul sau mai mulți substituenți fiecare ales în mod independent dintre halogeni, și grupări cicloalchil C_3-C_{10} substituite opțional cu unul sau mai mulți substituenți fiecare ales în mod independent dintre grupări alchil C_1-C_2 , grupări alchil C_1-C_2 halogenate, și halogeni
- 15 ☐ R^5 este ales dintre hidrogen și grupări alchil C_1-C_2 ;
- ☐ fiecare R^6 este ales în mod independent dintre grupări alchil C_1-C_2 ; și
- ☐ p este 0, 1, sau 2.

Un compus din prezenta invenție este un compus având Formula următoare:



o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori.

În unele realizări, un compus al invenției este un compus având formula următoare:



sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

- Sărurile acceptabile farmaceutic adecvate sunt, de exemplu, cele divulgate în S. M. Berge, et al. J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19. De exemplu, Tabelul 1 din acel articol
- 30 furnizează următoarele săruri acceptabile farmaceutic:

Tabelul 1:

Acetat	Iodură	Benzatină
Benzensulfonat	Isetionat	Cloroprocaină
Benzoat	Lactat	Colină
Bicarbonat	Lactobionat	Dietanolamină
Bitartrat	Maleat	Etilendiamină

Bromură	Maleat	Meglumină
Calciu edetat	Mandelat	Procaină
Camsilat	Mesilat	Aluminiu
Carbonat	Metilbromură	Calciu
Clorură	Metilnitrat	Litiu
Citrat	Metilsulfat	Magneziu
Diclorhidrat	Mucat	Potasiu
Edetat	Napsilat	Sodiu
Edisilat	Nitrat	Zinc
Estolat	Pamoat (Embonat)	
Esilat	Pantotenat	
Fumarat	Fosfat/difosfat	
Gluceptat	Poligalacturonat	
Gluconat	Salicilat	
Glutamat	Stearat	
Glicolilarsenilat	Subacetat	
Hexilresorcinat	Succinat	
Hidrabină	Sulfat	
Bromhidrat	Tanat	
Clorhidrat	Tartrat	
Hidroxi-naftoat	Teociat	
	Trietiodură	

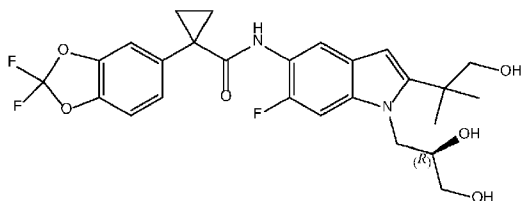
- Exemplele nelimitative de săruri acceptabile farmaceutic derivate din acizi adecvați includ: săruri formate cu acizi anorganici, cum ar fi acid clorhidric, acid bromhidric, acid fosforic, acid sulfuric, sau acid percloric; săruri formate cu acizi organici, cum ar fi acid acetic, acid oxalic, acid maleic, acid tartric, acid citric, acid succinic sau acid malonic; și săruri formate prin utilizarea altor metode utilizate în domeniu, cum ar fi schimbătorii de ioni. Exemplele nelimitative de săruri acceptabile farmaceutic includ săruri adipat, alginat, ascorbat, aspartat, benzensulfonat, benzoat, bisulfat, borat, butirat, camforat, camforsulfonat, citrat, ciclopentanpropionat, digluconat, dodecilsulfat, etansulfonat, formiat, fumarat, glucoheptonat, glicerofosfat, gluconat, hemisulfat, heptanoat, hexanoat, iodhidrat, 2-hidroxi-etansulfonat, lactobionat, lactat, laurat, lauril sulfat, maleat, maleat, malonat, metansulfonat, 2-naftalinsulfonat, nicotinat, nitrat, oleat, oxalat, palmitat, pamoat, pectinat, persulfat, 3-fenilpropionat, fosfat, picrat, pivalat, propionat, stearat, succinat, sulfat, tartrat, tiocianat, *p*-toluensulfonat, undecanoat, și valerat. Sărurile acceptabile farmaceutic derivate din baze adecvate includ săruri de metal alcalin, de metal alcalino pământos, amoniu, și $N^+(\text{alchil } C_{1-4})_4$. Această divulgare are de asemenea în vedere cuaternizarea oricăror grupări conținând azot bazic din compușii divulgați aici. Exemplele nelimitative adecvate de săruri de metal alcalin și alcalino pământos includ sodiu, litiu, potasiu, calciu, și magneziu. Alte exemple nelimitative de săruri acceptabile farmaceutic includ amoniu, amoniu cuaternar, și cationi amină formați utilizând contraioni cum ar fi halogenură, hidroxid, carboxilat, sulfat, fosfat, nitrat, alchil inferior sulfonat și aril sulfonat. Alte, exemple nelimitative de săruri acceptabile farmaceutic adecvate includ săruri besilat și glucozamină.

- În unele realizări, un compus al invenției, sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia, și derivații deuterati ai celor de mai sus se administrează în combinație cu cel puțin un compus ales dintre Compusul II, săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia, și derivații deuterati ai celor de mai sus. În unele realizări, un compus al invenției, săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia, și derivații deuterati ai celor de mai sus se administrează în combinație cu cel puțin un compus ales dintre Compusul III și săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia. În unele realizări, un compus al invenției, săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia, și derivații deuterati ai celor de mai sus se administrează în combinație cu cel puțin un compus ales dintre Compusul IV și săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia. În unele realizări, un compus al invenției, săruri acceptabile farmaceutic, și derivații deuterati ai celor de mai sus se administrează în combinație cu Compuși II sau o sare acceptabilă farmaceutic sau un derivat deuterat al acestora și cel puțin un compus ales dintre Compusul III, săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia, și derivații deuterati din oricare dintre cei de mai sus. În unele realizări, un compus al invenției, săruri acceptabile farmaceutic, și derivații deuterati din oricare dintre cei de mai sus ai acestuia este administrat în combinație cu cel puțin un compus ales dintre Compusul III, săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia, și derivații deuterati ai

celor de mai sus și cel puțin un compus ales dintre Compusul IV, săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia, și derivați deuterati ai celor de mai sus.

- În unele realizări, un compus al invenției, (și/sau cel puțin o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia și/sau cel puțin un derivat deuterat al unui astfel de compus sau sare) poate fi administrat în combinație cu cel puțin un ingredient farmaceutic activ suplimentar. În unele realizări, cel puțin un ingredient farmaceutic activ suplimentar este ales dintre:

(a) Compus II:



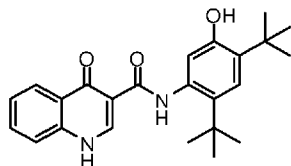
10

și săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia.

O denumire chimică pentru Compusul II este (*R*)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)-*N*-(1-(2,3-dihydroxipropil)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)-1H-indol-5-il)ciclopropancarboxamidă;

15

(b) Compus III:

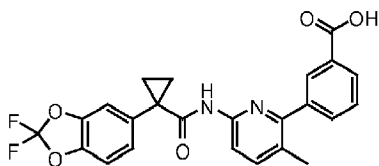


20

și săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia.

O denumire chimică pentru Compusul III este *N*-(5-hidroxi-2,4-di-terț-butil-fenil)-4-oxo-1H-chinolin-3-carboxamidă; și

(c) Compus IV:



25

și săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia.

- O denumire chimică pentru Compusul IV este acid 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropancarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoic. În unele realizări, Compusul I și/sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia poate fi administrat în combinație cu Compusul II și/sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia. În unele realizări, Compusul I și/sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia se poate administra în combinație cu Compusul III și/sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia. În unele realizări, Compusul I și/sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia se poate administra în combinație cu Compusul IV și/sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia. În unele realizări Compusul I și/sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia se poate administra în combinație cu Compușii II și/sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestora și Compusul III și/sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia. În unele realizări Compusul I și/sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia se poate administra în combinație cu Compușii II și/sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestora și Compusul IV și/sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

40

Intr-un aspect, divulgarea prezintă o compoziție farmaceutică cuprinzând Compusul I și/sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, și un purtător acceptabil farmaceutic.

Intr-un aspect, divulgarea prezintă o compoziție farmaceutică cuprinzând Compusul I și/sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, Compusul II și/sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, și un purtător acceptabil farmaceutic.

45

Intr-un aspect, divulgarea prezintă o compoziție farmaceutică cuprinzând Compusul I și/sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, Compusul III și/sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, și un purtător acceptabil farmaceutic.

Intr-un aspect, divulgarea prezintă o compoziție farmaceutică cuprinzând Compusul I și/sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, Compusul II și/sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, Compusul III și/sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, și un purtător acceptabil farmaceutic.

5 Un compus al invenției, cum ar fi de exemplu, Compusul 1, și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia, și derivații deuterati ai unor astfel de compuși și sărurile pot fi comprinși într-o compoziție farmaceutică unică sau în compoziții farmaceutice separate în combinație cu alt(alți) ingredient(ți) farmaceutic activ(i) suplimentar(i) (de exemplu, Compusul II, III, sau IV, sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat al acestui compus sau sare) .
10 Astfel de compoziții farmaceutice pot fi administrate o dată pe zi sau de mai multe ori pe zi, cum ar fi de două ori pe zi. În unele realizări, divulgarea prezintă o compoziție farmaceutică cuprinzând un compus al invenției, și săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia, și cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic.

15 În unele realizări, divulgarea prezintă o compoziție farmaceutică cuprinzând un compus al invenției, și săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia, cel puțin un compus ales dintre Compusul II și săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia, și cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic.

20 În unele realizări, divulgarea prezintă o compoziție farmaceutică cuprinzând un compus al invenției, și săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia, cel puțin un compus ales dintre Compusul III și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia, și cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic.

25 În unele realizări, divulgarea prezintă o compoziție farmaceutică cuprinzând un compus al invenției, și săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia, cel puțin un compus ales dintre Compusul II și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia, cel puțin un compus ales dintre Compusul III și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia, și cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic.

30 În unele realizări, divulgarea prezintă o compoziție farmaceutică cuprinzând un compus al invenției, și săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia, cel puțin un compus ales dintre Compusul III și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia, cel puțin un compus ales dintre Compusul IV și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia, și cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic.

35 În unele realizări, compozițiile farmaceutice divulgate aici cuprind cel puțin un ingredient farmaceutic activ suplimentar. În unele realizări, acel cel puțin un ingredient farmaceutic suplimentar activ este un modulator CFTR. În unele realizări, acel cel puțin un ingredient farmaceutic activ suplimentar este un corector CFTR. În unele realizări, acel cel puțin un ingredient farmaceutic activ suplimentar este un potențiator CFTR. În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde (i) un compus al invenției, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat al unui astfel de compus sau sare; și (ii) cel puțin două ingrediente farmaceutice active suplimentare, unul care este un corector CFTR și unul care este un potențiator CFTR.

40 În unele realizări, cel puțin un ingredient farmaceutic activ suplimentar este selectat dintre agenți mucolitici, bronhodilatatori, antibiotice, agenți antiinfecțioși, și agenți anti-inflamatori.

45 O compoziție farmaceutică poate cuprinde suplimentar cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic. În unele realizări, acel cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic este ales dintre vehiculi acceptabili farmaceutic și adjuvanți acceptabili farmaceutic. În unele realizări, acel cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic este ales dintre umpluturi, dezintegranți, surfactanți, lianți, lubrifianți acceptabili farmaceutic.

50 Se va aprecia de asemenea că o compoziție farmaceutică din această divulgare, incluzând o compoziție farmaceutică cuprinzând combinații descrise anterior, poate fi utilizată în terapii de combinație; adică, compozițiile pot fi administrate concomitent cu, înainte de, sau ulterior, față de cel puțin un ingredient farmaceutic activ suplimentar sau procedură medicală.

Compozițiile farmaceutice cuprinzând aceste combinații sunt utile pentru tratarea fibrozei chistice.

55 Așa cum s-a descris mai sus, compozițiile farmaceutice divulgate aici pot opțional să cuprindă suplimentar cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic. Acel cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic poate fi ales dintre adjuvanți și vehiculi. Acel cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic, așa cum s-a utilizat în acest document, include oricare și toți solvenții, diluanții, alți vehiculi lichizi, adaosuri de dispersare, adaosuri de suspendare, agenți tensioactivi, agenți izotonici, agenți de îngroșare, agenți de emulsionare, conservanți, lianți solizi și lubrifianți, adecvați formei de dozare specifice dorite. Remington: The Science and Practice of Pharmacy, ediția a 21-a, 2005, ed. D.B. Troy, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, și Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, eds. J. Swarbrick and J. C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker,

New York divulgă diferiți purtători utilizați în formularea compozițiilor farmaceutice și tehnici cunoscute pentru prepararea acestora. Cu excepția cazului în care orice purtător convențional este incompatibil cu compușii din această divulgare, cum ar fi prin producerea oricărui efect biologic indezirabil sau interacționează altfel într-o manieră dăunătoare cu orice alt component(componenti) ai compoziției farmaceutice, utilizarea lui este avută în vedere pentru a fi în domeniul acestei divulgări. Exemplele nelimitative de purtători acceptabili farmaceutic adecvați includ, dar nu sunt limitate la, schimbători de ioni, alumină, stearat de aluminiu, lecitină, proteine din ser (cum ar fi albumină din ser uman), substanțe tampon (cum ar fi fosfați, glicină, acid sorbic, și sorbat de potasiu), gliceride parțiale ale amestecurilor de acizi grași vegetali saturați, apă, săruri, și electroliți (cum ar fi sulfat de protamină, fosfat acid disodic, fosfat acid de potasiu, clorură de sodiu, și săruri de zinc), silice coloidală, trisilicat de magneziu, polivinil pirolidonă, poliacrilați, ceruri, polimeri bloc polietilenă-polioxipropilenă, grăsimi din lână, zaharuri (cum ar fi lactoză, glucoză și zaharoză), amidonuri (cum ar fi amidon din porumb și amidon din cartofi), celuloză și derivații săi (cum ar fi carboximetil celuloză de sodiu, etil celuloză și acetat de celuloză), tragacanth pulbere, malț, gelatină, talc, excipienți (cum ar fi unt de cacao și ceruri pentru supozitoare), uleiuri (cum ar fi ulei de arahide, ulei din semințe de bumbac, ulei de sofrânel, ulei de susan, ulei de măsline, ulei de porumb și ulei de soia), glicoli (cum ar fi propilen glicol și polietilen glicol), esterii (cum ar fi oleat de etil și laurat de etil), agar, agenți de tamponare (cum ar fi hidroxid de magneziu și hidroxid de aluminiu), acid alginic, apă apirogenă, soluție salină izotonică, soluție Ringer, alcool etilic, soluții tampon cu fosfat, lubrifianți netoxici compatibili (cum ar fi lauril sulfat de sodiu și stearat de magneziu), agenți de colorare, agenți de eliberare, agenți de acoperire, agenți de îndulcire, agenți de aromatizare, agenți de parfumare, conservanți, și antioxidanți.

În unele realizări, compușii pentru utilizare în metodele din divulgare utilizează administrarea la un pacient care are nevoie de aceasta a unui compus al invenției, și a sărurilor acceptabile farmaceutic ale acestuia, și a cel puțin unui compus ales dintre Compusul II, Compusul III, Compusul IV, și sărurile acceptabile farmaceutic ale oricăruia dintre aceștia.

Orice compoziții farmaceutice adecvate cunoscute în domeniu pot fi utilizate pentru noii compuși divulgați aici, Compusul II, Compusul III, Compusul IV, și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestora. Unele compoziții farmaceutice exemplare pentru Compusul I și sărurile lui acceptabile farmaceutic sunt descrise în Exemple. Unele compoziții farmaceutice exemplare pentru Compusul II și sărurile lui acceptabile farmaceutic se pot găsi în WO 2011/119984 și WO 2014/015841. Unele compoziții farmaceutice exemplare pentru Compusul III și sărurile lui acceptabile farmaceutic pot fi găsite în WO 2007/134279, WO 2010/019239, WO 2011/019413, WO 2012/027731, și WO 2013/130669. Unele compoziții farmaceutice exemplare pentru Compusul IV și sărurile lui acceptabile farmaceutic pot fi găsite în WO 2010/037066, WO 2011/127241, WO 2013/112804, și WO 2014/071122.

În unele realizări, o compoziție farmaceutică cuprinzând un compus al invenției, și săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia este administrată cu o compoziție farmaceutică cuprinzând Compusul II și Compusul III. Compozițiile farmaceutice cuprinzând Compusul II și Compusul III sunt divulgate în Publicația PCT nr. WO 2015/160787. O realizare exemplară este prezentată în Tabelul 2 următor:

Tabelul 2. Exemplu de tabletă cuprinzând 100 mg de Compus II și 150 mg de Compus III.

	Ingredient	Cantitate tabletă (mg)	pe
Intra-granular	Compus II SDD (dispersie uscată prin pulverizare) (80 % din masă Compus II, 20 % din masă HPMC)	125	
	Compus III SDD (80 % din masă Compus III, 19,5 % în greutate HPMCAS-HG; 0,5 % în greutate lauril sulfat de sodiu)	187,5	
	Celuloză microcristalină	131,4	
	Croscarmeloză de sodiu	29,6	
	Total	473,5	
Extra-granular	Celuloză microcristalină	112,5	
	Stearat de magneziu	5,9	
	Total	118,4	
Total Tabletă neacoperită		591,9	
Acoperire cu film	Opadry	17,7	
Total Tabletă acoperită		609,6	

În unele realizări, o compoziție farmaceutică cuprinzând un compus al invenției, și săruri farmaceutice ale acestuia este administrată cu o compoziție farmaceutică cuprinzând Compusul III. Compozițiile farmaceutice cuprinzând Compusul III sunt divulgate în Publicația PCT nr. WO 2010/019239. O realizare exemplară este prezentată în Tabelul 3 următor:

Tabelul 3: Ingrediente pentru tableta de Compus III exemplară.

Formulare de tabletă	Procente în greutate.	Doză %	Doză (mg)	Șarjă (g)
Compus III SDD (80 % în greutate Compus III, 19,5 % în greutate HPMCAS-HG; 0,5 % în greutate lauril sulfat de sodiu)	34,09%		187,5	23,86
Celuloză microcristalină	30,51%		167,8	21,36
Lactoză	30,40%		167,2	21,28
Croscarmeloză de sodiu	3,000%		16,50	2,100
SLS	0,500%		2,750	0,3500
Dioxid de siliciu coloidal	0,500%		2,750	0,3500
Stearat de magneziu	1,000%		5,500	0,7000
Total	100%		550	70

Compozițiile farmaceutice suplimentare cuprinzând Compusul III sunt divulgate în Publicația PCT nr. WO 2013/130669. Mini-tabletele exemplare (diametru ~2 mm, grosime ~2 mm, fiecare mini-tabletă cântărind aproximativ 6,9 mg) au fost formulate pentru a avea aproximativ 50 mg de Compus III per 26 mini-tablete și aproximativ 75 mg de Compus III per 39 mini-tablete utilizând cantitățile de ingrediente enumerate în Tabelul 4, de mai jos.

Tabelul 4: Ingrediente pentru mini-tablete pentru 50 mg și 75 mg potență

Formulare de tabletă	Procente în greutate	Doză 50 mg potență	Doză 75 mg potență	Șarjă (g)
Compus III SDD (80 % în greutate Compus III, 19,5 % în greutate HPMCAS-HG; 0,5 % în greutate lauril sulfat de sodiu)	35	62,5	93,8	1753,4
Manitol	13,5	24,1	36,2	675,2
Lactoză	41	73,2	109,8	2050,2
Sucraloză	2,0	3,6	5,4	100,06
Croscarmeloză de sodiu	6,0	10,7	16,1	300,1
Dioxid de siliciu coloidal	1,0	1,8	2,7	50,0
Stearat de magneziu	1,5	2,7	4,0	74,19
Total	100	178,6	268	5003,15

În unele realizări, compozițiile farmaceutice sunt tablete. În unele realizări, tabletele sunt adecvate pentru administrare orală.

Compușii, sărurile acceptabile farmaceutic ale acestora, și analogii deuterati din oricare dintre cei anteriori, și compozițiile farmaceutice, din această divulgare, fie ca monoterapii fie în terapii de combinație sunt utili pentru tratarea fibrozei chistice.

În unele realizări, compușii invenției, sărurile acceptabile farmaceutic ale acestora, și analogii deuterati din oricare dintre cei anteriori, sau o compoziție farmaceutică a invenției, sunt pentru utilizare în metode pentru tratarea, atenuarea severității, sau tratarea simptomatică a fibrozei chistice la un pacient, cuprinzând administrarea unei cantități eficiente dintr-un compus, sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un analog deuterat din oricare dintre cei anteriori; sau o compoziție farmaceutică, din această divulgare la un pacient, cum ar fi un om, în care pacientul menționat are fibroză chistică. În unele realizări, pacientul are genotipuri F508del/funcție minimă (MF), genotipuri F508del/F508del, genotipuri F508del/intrare, sau genotipuri F508del/funcție reziduală (RF).

Pacienții cu un genotip F508del/funcție minimă sunt definiți ca pacienți care sunt heterozigoți F508del-CFTR cu o a doua alelă CFTR conținând o mutație care este estimată a conduce la o proteină CFTR cu funcție minimă și care nu este de așteptat să răspundă la Compusul II, Compusul III, sau la combinația Compusului II și Compusului III. Aceste mutații CFTR au fost definite utilizând 3 surse majore:

- ☐ plauzibilitatea biologică pentru mutație de a răspunde (adică, clasa mutației)
- ☐ dovezi ale severității clinice pe bază populației (pe registru de pacienți CFTR2; accesat la 15 februarie 2016)

- ☐ clorură medie în transpirație >86 mmol/L, și
- ☐ prevalența insuficienței pancreatice (PI) >50%
- ☐ testare *in vitro*

5 ☐ mutațiile care au dus la transportul inițial al clorurii <10% din CFTR de tip sălbatic au fost considerate funcții minime

- ☐ mutațiile care conduc la transportul clorurii < 10% din CFTR de tip sălbatic după adăugarea Compusului II și/sau Compusului III au fost considerate non-responsive.

10 Pacienții cu un genotip F508del/funcție reziduală sunt definiți ca pacienți care sunt heterozigoți F508del-CFTR cu o a doua mutație care conține o alelă CFTR care conduce la o cantitate de proteină sau o funcție redusă la suprafața celulei care poate produce activitate CFTR parțială. Mutațiile genei CFTR cunoscute a conduce la un fenotip cu funcție reziduală includ în unele realizări, o mutație a CFTR cu funcție reziduală selectată dintre 2789+5G→ 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, 15 D1152H, D1270N, E193K, și K1060T. În unele realizări, mutația CFTR cu funcție reziduală este selectată dintre R117H, S1235R, I1027T, R668C, G576A, M470V, L997F, R75Q, R1070Q, R31C, D614G, G1069R, R1162L, E56K, A1067T, E193K, sau K1060T. În unele realizări, mutația CFTR cu funcție reziduală este selectată dintre R117H, S1235R, I1027T, R668C, G576A, M470V, L997F, R75Q, R1070Q, R31C, D614G, G1069R, R1162L, E56K, sau A1067T.

20 Pacienții cu un genotip de mutație F508del/intrare sunt definiți ca pacienți care sunt heterozigoți F508del-CFTR cu o a doua alelă CFTR care conține o mutație asociată cu un defect de intrare și au demonstrat clinic că răspund la Compusul III. Exemplele de astfel de mutații includ: G178R, S549N, S549R, G551D, G551S, G1244E, S1251N, S1255P, și G1349D.

25 În unele realizări, compușii invenției, sărurile acceptabile farmaceutic ale acestora, și analogii deuterati din oricare dintre cei anteriori, sau o compoziție farmaceutică a invenției, sunt pentru utilizare în metode pentru tratarea, atenuarea severității, sau tratarea simptomatică a fibrozei chistice divulgate aici, în care fiecare în mod independent produce o creștere în transportul clorurii peste transportul inițial al clorurii la pacient.

30 În unele realizări, în metodele pentru tratarea, atenuarea severității, sau tratarea simptomatică a fibrozei chistice divulgate aici, pacientul este heterozigot pentru mutația F508del, și cealaltă mutație CFTR este orice mutație care determină CF. În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația F508del, și cealaltă mutație CFTR este orice mutație care determină CF, și este de așteptat să răspundă și/sau răspunde la oricare dintre noii compuși divulgați aici, cum ar fi Compusul I, Compusul II, Compusul III și/sau Compusul IV, genotipuri pe baza datelor 35 *in vitro* și/sau clinice. În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația F508del, și cealaltă mutație CFTR este orice mutație care determină CF, și este de așteptat să răspundă și/sau răspunde la oricare dintre noii compuși dezvăluiți aici, cum ar fi genotipurile Compusului I, Compusului II, Compusului III și / sau Compusului IV, pe baza datelor *in vitro* și / sau este de așteptat să răspundă și/sau răspunde la orice combinații de (i) noi compuși divulgați aici, cum ar 40 fi Compus I, și (ii) Compus II, și/sau Compus III și/sau Compus IV, genotipuri pe baza datelor *in vitro* și/sau clinice.

45 În unele realizări, în metodele pentru tratarea, atenuarea severității, sau tratarea simptomatică a fibrozei chistice divulgate aici, pacientul posedă o mutație CFTR selectată dintre oricare dintre mutațiile listate în Tabelul 5.

Tabelul 5. Mutații CFTR

078delT	297-1G → A	11234V
444delA	1078delT	

1154insTC
1119delA
1161delC
1138insG
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+1G->C
1811+1.6kbA→G
1811+1G→C
1812-1G->A
1898+1G->A
1812-1G→A
1824delA
182delT
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 ^a
2183delAA→G
2184delA
2184insA
2307insA
2347delG
2556insAT
2585delT
2594delGT
2622+1G->A
2659delC
2711delT
271delT
2721del11
2732insA
2789+2insA
2789+5G→A
2790-1G→C
2790-1G->C
2869insG
2896insAG
2942insT
2957delT
296+1G→A
2991del32
3007delG
3028delA
3040G→C
306insA
306insA
1138insG
3120G→A
3120 + 1G → 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
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
621+3A→G
663delT
663delT
675del4
711+1G→T
711+1G→T
711+3A→G
711+5G→A
712-1G→T
7T
852del22
935delA
991del5
A1006E
A120T
A234D
A349V
A455E
A460
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
E60X
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)
G673X
G85E
G91R
G970D
G970R
G970R
H1054D
H1085P
H1085R
H1375P
H139R
H199R
H199Y
H609R
H939R
I336K
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
Q290X
Q359K/T360K
Q39X
Q414
Q414X
Q452P
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
R785X
R792G
R792X
R851X
R933G
S1118F
S1159F
S1159P
S1196X
S1235R
S1251N
S1255P
S1255X
S13F
S341P
S434X
S466X
S489X
S492F
S4X
S549N

S549R	V232D	W57X
S549R(A->C)	V456A	W846X
S549R(T->G)	V456F	Y1014C
S589N	V520F	Y1032C
S737F	V562I	Y1092X
S912L	V754M	Y109N
S912X	W1089X	Y122X
S945L	W1098C	Y161D
S977F	W1098R	Y161S
T1036N	W1098X	Y563D
T1053I	W1204X	Y563N
T1246I	W1282R	Y569C
T338I	W1282X	Y569D
T604I	W361R	Y569Db
V1153E	W401X	Y849X
V1240G	W496X	Y913C
V1293G	W57G	Y913X
V201M	W57R	

* Cunoscut de asemenea ca 2183delAA → G

- În unele realizări, în metodele pentru tratarea, atenuarea severității, sau tratarea simptomatică a fibrozei chistice divulgate aici, pacientul posedă o mutație CFTR selectată dintre
- 5 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,
- 10 711+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,
- 15 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,
- 20 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,
- 25 W57R, Y1014C, Y1032C, Y109N, Y161D, Y161S, Y563D, Y563N, Y569C, și Y913C.

- În unele realizări, pacientul are cel puțin o mutație combinată aleasă dintre: 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, și 621+3A->G.
- 30

În unele realizări, pacientul are cel puțin o mutație combinată aleasă dintre: 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, și Y913C.

În unele realizări, în metodele pentru tratarea, atenuarea severității, sau tratarea simptomatică a fibrozei chistice divulgate aici, pacientul posedă o mutație CFTR G551D. În unele realizări, pacientul este homozigot pentru mutația G551D. În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația G551D. În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația G551D, având mutația G551D pe o alelă și orice altă mutație care determină CF pe cealaltă alelă. În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația genetică G551D pe o alelă și cealaltă mutație care determină CF pe cealaltă alelă este oricare dintre 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, sau 711+1G->T. În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația G551D, și cealaltă mutație CFTR este F508del. În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația G551D, și cealaltă mutație CFTR este R117H.

În unele realizări, în metodele pentru tratarea, atenuarea severității, sau tratarea simptomatică a fibrozei chistice divulgate aici, pacientul posedă o mutație CFTR F508del. În unele realizări, pacientul este homozigot pentru mutația F508del. În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația F508del în care pacientul are mutația F508del pe o alelă și orice mutație care determină CF pe cealaltă alelă. În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația F508del, și cealaltă mutație CFTR este orice mutație care determină CF, incluzând, dar nu limitat la 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, sau 711+1G->T. În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația F508del, și cealaltă mutație CFTR este G551D. În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația F508del, și cealaltă mutație CFTR este R117H.

În unele realizări, pacientul are cel puțin o mutație combinată aleasă dintre:

- (i) D443Y;G576A;R668C,
- (ii) F508C;S1251N,
- (iii) G576A; R668C,
- (iv) G970R; M470V,
- (v) R74W;D1270N,
- (vi) R74W;V201M, Și
- (vii) R74W;V201M;D1270N.

În unele realizări, în metodele pentru tratarea, atenuarea severității, sau tratarea simptomatică a fibrozei chistice divulgate aici, pacientul posedă o mutație CFTR selectată dintre G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V și G1069R. În unele realizări, pacientul posedă o mutație CFTR selectată dintre G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R și S1251N. În unele realizări, pacientul posedă o mutație CFTR selectată dintre E193K, F1052V și G1069R. În unele realizări, metoda produce o creștere a transportului clorurii în raport cu transportul inițial al clorurii în pacient.

În unele realizări, în metodele pentru tratarea, atenuarea severității, sau tratarea simptomatică a fibrozei chistice divulgate aici, pacientul posedă o mutație CFTR selectată dintre R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N și D1152H.

În unele realizări, pacientul posedă o mutație CFTR selectată dintre 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
 Și 621+3A->G. În unele realizări, pacientul posedă o mutație CFTR selectată dintre 1717-1G->A, 1811+1,6kbA->G, 2789+5G->A, 3272-26A->G Și 3849+10kbC->T. În unele realizări, pacientul

5 posedă o mutație CFTR selectată dintre 2789+5G->A Și 3272-26A->G.

În unele realizări, în metodele pentru tratarea, atenuarea severității, sau tratarea simptomatică a fibrozei chistice divulgate aici, pacientul posedă o mutație CFTR selectată dintre 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 Și 621+3A->G, și

15 mutații CFTR selectate dintre F508del, R117H, și G551D.

În unele realizări, în metodele pentru tratarea, atenuarea severității, sau tratarea simptomatică a fibrozei chistice divulgate aici, pacientul posedă o mutație CFTR selectată dintre 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, și o

25 mutație CFTR selectată dintre F508del, R117H, și G551D; și o mutație CFTR selectată dintre F508del, R117H, și G551D.

În unele realizări, pacientul posedă o mutație CFTR selectată dintre G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V Și G1069R, și o mutație CFTR selectată dintre F508del, R117H, și G551D. În unele realizări, pacientul posedă o mutație CFTR selectată dintre G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R Și S1251N, și o mutație CFTR selectată dintre F508del, R117H, și G551D. În unele realizări, pacientul posedă o mutație CFTR selectată dintre E193K, F1052V și G1069R, și o

35 mutație CFTR selectată dintre F508del, R117H, și G551D.

În unele realizări, pacientul posedă o mutație CFTR selectată dintre R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N Și D1152H, și o mutație CFTR selectată dintre F508del, R117H, și G551D.

În unele realizări, pacientul posedă o mutație CFTR selectată dintre 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
 Și 621+3A->G, și o mutație CFTR selectată dintre F508del, R117H, și G551D. În unele realizări, pacientul posedă o mutație CFTR selectată dintre 1717-1G->A, 1811+1,6kbA->G, 2789+5G->A, 3272-26A->G Și 3849+10kbC->T, și o mutație CFTR selectată dintre F508del, R117H, și G551D. În unele realizări, pacientul posedă o mutație CFTR selectată dintre 2789+5G->A Și 3272-26A->G, și o mutație CFTR selectată dintre F508del, R117H.

50 În unele realizări, pacientul este heterozigot având o mutație care determină CF pe una din alelele CFTR, și o mutație care determină CF pe cealaltă alelă. În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația F508del, și cealaltă mutație care determină CF este orice mutație care determină CF, incluzând, dar nu limitat la F508del pe o alelă CFTR și o mutație CFTR pe a doua alelă CFTR care este asociată cu funcție CFTR minimă, funcție CFTR reziduală, sau cu un defect în activitatea de intrare a canalului CFTR. În unele realizări, mutația care determină CF este selectată din Tabelul 6. În unele realizări, mutația care determină CF este selectată din Tabelul 7.

În unele realizări, pacientul este heterozigot având o mutație CFTR pe una din alelele CFTR selectată dintre mutațiile listate în tabelul din FIG. 7 și o mutație CFTR pe cealaltă alelă CFTR selectată dintre mutațiile CFTR listate în Tabelul 6:

60

Tabelul 6: Mutații CFTR

Q39X
W57X
E60X
R75X
E92X
Q98X
Y122X
L218X
Q220X
C276X
Q290X
G330X
W401X
Q414X
S434X
S466X
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
S 1255X
W1282X
Q1313X
621+1G→7T
711+1G→T
711+5G→A
712-1G→T
405+1G→A
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
574delA
2711delT
3791delC
CFTRdele22-23
457TAT-7G
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
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

Tabelul 7: Mutații CFTR

Criterii	Mutație				
Mutații de trunchiere	S4X	C276X	G542X	R792X	E1104X
• %PI >50% și/sau SwCl >86 mmol/L	G27X	Q290X	G550X	E822X	R1158X
	Q39X	G330X	Q552X	W846X	R1162X
• fără proteină de lungime completă	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
Mutații de îmbinare	185+1G→T	711+5G→A	1717-8G→A	2622+1G→A	3121-1G→A
• %PI >50% și/sau SwCl >86 mmol/L	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
• fără sau cu puțin ARNm matur	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	

Criterii	Mutație				
Mutații mici ale deplasării cadrului de introducere/deleție (ins/del) (≤ 3 nucleotide)	182delT	1119delA	1782delA	2732insA	3876delA
	306insA	1138insG	1824delA	2869insG	3878delG
	365-366insT	1154insTC	2043delG	2896insAG	3905insT
	394delTT	1161delC	2143delT	2942insT	4016insT
• %PI >50% și/sau SwCl >86 mmol/L	442delA	1213delT	2183AA→G ^a	2957delT	4021dupT
• proteină denaturată și/sau trunchiată	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	1609del CA	2594delGT	3791delC	
	1078delT	1677delTA	2711delT	3821delT	
mutații non-mici ale cadrului de deplasare de introducere/deleție (ins/del) (>3 nucleotide)	CFTRdele2,3		1461ins4	2991del32	
	CFTRdele22,23		1924del7	3667ins4	
	124del23bp		2055del9→A	4010del4	
	852del22		2105-2117del13insAGAAA	4209TGTT	→-AA
• %PI >50% și/sau SwCl >86 mmol/L	991del5		2721del11		
• proteină denaturată și/sau trunchiată					
Mutații din Clasa II, III, IV care nu răspund la Compus III singur sau în combinație cu Compus II sau Compus IV	A46D ^b	V520F	Y569D ^b	N1303K	
	G85E	A559T ^b	L1065P		
	R347P	R560T	R1066C		
	L467P ^b	R560S	L1077P ^b		
	I507del	A561E	M1101K		
• %PI>50% și/sau SwCl >86 mmol/L și					
• Care nu răspund la Compus III singur sau în combinație cu Compus II sau Compus IV, <i>in vitro</i>					
Notă: %PI: procent de pacienți heterozigoți <i>F508del-CFTR</i> din registrul de pacienți CFTR2 care au insuficiență pancreatică; SwCl: clorură medie în transpirația pacienților heterozigoți <i>F508del-CFTR</i> din registrul de pacienți CFTR2					
^a Cunoscut de asemenea ca 2183delAA→G.					
^b Date nepublicate.					

Tabelul 7 de mai sus include anumite mutații exemplare de funcție minimă a CFTR, care sunt detectabile printr-un test de genotipare autorizat de FDA, dar nu include o listă exhaustivă.

- 5 În unele realizări, pacientul este: cu genotipuri *F508del/MF* (F/MF) (heterozigot pentru mutația *F508del* și o mutație MF care nu este de așteptat să răspundă la modulatori ai CFTR, cum ar fi Compusul III); cu genotip *F508del/F508del* (F/F) (homozigot pentru mutația *F508del*); și/sau cu genotipuri *F508del/intrare* (F/G) (heterozigot pentru mutația *F508del* și o mutație de intrare cunoscută a fi receptivă la modulator CFTR (de exemplu, receptivă la Compusul III). În unele realizări, pacientul cu genotipuri *F508del/MF* (F/MF) are o mutație MF care nu este de așteptat să răspundă la Compus II, Compus III, și la ambii, Compus II și Compus III. În unele realizări, pacientul cu genotipuri *F508del/MF* (F/MF) are oricare din mutațiile MF din Tabelul 7.

- 10 În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația *F508del*, și cealaltă mutație genetică CFTR este orice mutație care determină CF, incluzând mutații de trunchiere, mutații de imbinare, mutații frameshift de introducere sau deleție (ins/del) mici (nucleotidă ≤ 3); mutații frameshift de introducere sau deleție (ins/del) non-mici (nucleotidă >3); și mutații din Clasa II, III, IV care nu răspund la Compusul III singur sau în combinație cu Compusul II sau Compusul IV.

- 15 În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația *F508del*, și cealaltă mutație genetică CFTR este o mutație de trunchiere. În unele realizări specifice, mutația de trunchiere este o mutație de trunchiere listată în Tabelul 7.

- 20 În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația *F508del*, și cealaltă mutație genetică CFTR este o mutație de imbinare. În unele realizări specifice, mutația de imbinare este o mutație de imbinare listată în Tabelul 7.

În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația F508del, și cealaltă mutație genetică CFTR este o mutație frameshift de introducere sau deleție (ins/del) mică (nucleotidă ≤ 3). În unele realizări specifice, mutația frameshift de introducere sau deleție (ins/del) mică (nucleotidă ≤ 3) este o mutație frameshift de introducere sau deleție (ins/del) mică (nucleotidă ≤ 3) listată în Tabelul 7.

În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația F508del, și cealaltă mutație genetică CFTR este orice mutație care determină CF care se așteaptă să răspundă și/sau răspunde, pe baza datelor *in vitro* și/sau clinice, la orice combinație de (i) un compus al invenției (de exemplu, Compusul I), și săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia, și derivații lor deuterati), și (ii) Compusul II, și/sau Compusul III, și/sau Compusul IV.

În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația F508del, și cealaltă mutație genetică CFTR este orice mutație care determină CF care se așteaptă să răspundă și/sau răspunde, pe baza datelor *in vitro* și/sau clinice, la combinația triplă dintre un compus al invenției (de exemplu, Compusul I), și săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia, și derivații lor deuterati), și Compusul II, și Compusul III.

În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația F508del, și cealaltă mutație genetică CFTR este o mutație frameshift de introducere sau deleție (ins/del) non-mică (nucleotidă > 3). În unele realizări specifice, mutația frameshift de introducere sau deleție (ins/del) non-mică (nucleotidă > 3) este o mutație frameshift de introducere sau deleție (ins/del) non-mică (nucleotidă > 3) listată în Tabelul 6.

În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația F508del, și cealaltă mutație genetică CFTR este o mutație din Clasa II, III, IV care nu răspunde la Compusul III singur sau în combinație cu Compusul II sau Compusul IV. În unele realizări, mutațiile din Clasa II, III, IV care nu răspund la Compusul III singur sau în combinație cu Compusul II sau Compusul IV sunt mutații din Clasa II, III, IV care nu răspund la Compusul III singur sau în combinație cu Compusul II sau Compusul IV listate în Tabelul 7.

În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația F508del, și cealaltă mutație genetică CFTR este orice mutație listată în Tabelul 7.

În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația F508del, și cealaltă mutație genetică CFTR este orice mutație, dar alta decât F508del, listată în Tabelul 5, 6, 7, și FIG. 7.

În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația F508del, și cealaltă mutație genetică CFTR este orice mutație listată în Tabelul 5. În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația F508del, și cealaltă mutație genetică CFTR este orice mutație listată în Tabelul 6. În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația F508del, și cealaltă mutație genetică CFTR este orice mutație listată în Tabelul 7. În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația F508del, și cealaltă mutație genetică CFTR este orice mutație listată în FIG. 7.

În unele realizări, pacientul este homozigot pentru F508del.

În unele realizări, pacientul este heterozigot având o mutație pe o alelă a CFTR care determină CF selectată dintre mutațiile listate în tabelul din Fig. 7 și o altă mutație pe cealaltă alelă a CFTR care determină CF este selectată dintre mutațiile CFTR listate în Tabelul 7.

În unele realizări, compoziția divulgată aici este utilă pentru tratarea, atenuarea severității, sau tratarea simptomatică a fibrozei chistice la pacienți care prezintă activitate CFTR reziduală în membrana apicală a epiteliului respirator și non- respirator. Prezența activității CFTR reziduale la suprafața epitelială poate fi cu ușurință detectată utilizând metode cunoscute în domeniu, de exemplu, tehnici electrofiziologice, biochimice, sau histochimice standard. Astfel de metode identifică activitatea CFTR utilizând tehnici electrofiziologice *in vivo* sau *ex vivo*, măsurarea concentrațiilor de Cl⁻ în transpirație sau salivă, sau tehnici biochimice sau histochimice *ex vivo* pentru a monitoriza densitatea suprafeței celulare. Utilizând astfel de metode, activitatea reziduală a CFTR poate fi cu ușurință detectată pentru pacienții care sunt heterozigoți sau homozigoți pentru o varietate de mutații diferite, incluzând pacienții heterozigoți pentru cea mai comună mutație, F508del, precum și pentru alte mutații cum ar fi mutația G551D, sau mutația R117H. În unele realizări, compozițiile divulgate în acest document sunt utile pentru tratarea, atenuarea severității, sau tratarea simptomatică a fibrozei chistice la pacienți care prezintă activitate CFTR reziduală slabă sau deloc. În unele realizări, compozițiile divulgate în acest document sunt utile pentru tratarea, atenuarea severității, sau tratarea simptomatică a fibrozei chistice la pacienții care prezintă activitate CFTR reziduală slabă sau deloc în membrana apicală a epiteliului respirator.

În unele realizări, sunt divulgate compoziții utile pentru tratarea sau atenuarea severității fibrozei chistice la pacienți care prezintă activitate CFTR reziduală utilizând metode farmacologice. Astfel de metode măresc cantitatea de CFTR prezentă la suprafața celulei, inducând astfel o activitate CFTR absentă până acum la un pacient sau măbind nivelul existent al activității CFTR reziduale la un pacient.

În unele realizări, compozițiile divulgate în acest document sunt utile pentru tratarea sau atenuarea severității fibrozei chistice cu anumite genotipuri care prezintă activitate CFTR reziduală.

5 În unele realizări, compozițiile divulgate în acest document sunt utile pentru tratarea, atenuarea severității, sau tratarea simptomatică a fibrozei chistice la pacienți în anumite fenotipuri clinice, de exemplu, un fenotip clinic ușor până la moderat care se corelează de obicei cu cantitatea de activitate CFTR reziduală în membrana apicală a epitelului. Astfel de fenotipuri includ pacienți care prezintă suficiență pancreatică.

10 În unele realizări, compozițiile divulgate în acest document sunt utile pentru tratarea, atenuarea severității, sau tratarea simptomatică a pacienților diagnosticați cu suficiență pancreatică, pancreatită idiopatică și absență bilaterală congenitală a canalelor deferente sau boală pulmonară ușoară în care pacientul prezintă activitate CFTR.

15 Compușii invenției pot fi utilizați într-o metodă de mărire sau inducere a activității canalului anionic *in vitro* sau *in vivo*, cuprinzând punerea în contact a canalului cu o compoziție divulgată aici. În unele realizări, canalul anionic este un canal clorură sau un canal bicarbonat. În unele realizări, canalul anionic este un canal clorură.

20 Cantitatea exactă de compoziție farmaceutică necesară va varia de la subiect la subiect, în funcție de specii, vârstă, și starea generală a subiectului, severitatea bolii, agentul particular, modul său de administrare, și altele asemenea. Compușii din această divulgare pot fi formulați în formă de doză unică pentru ușurința administrării și uniformitatea dozării. Expresia „doză unică” așa cum s-a utilizat în acest document se referă la o unitate fizică discretă de agent adecvat pentru pacientul care trebuie tratat. Se va înțelege, totuși, că utilizarea zilnică totală a compușilor și compozițiilor din această dezvăluire va fi decisă de către medicul curant printr-o decizie medicală corectă. Nivelul dozei eficiente specifice pentru orice pacient sau organism particular va depinde de o
25 varietate de factori incluzând tulburarea de tratat și severitatea acesteia; activitatea compusului specific utilizat; compoziția specifică utilizată; vârsta, greutatea corporală, sănătatea generală, sexul și dieta pacientului; momentul administrării, calea de administrare, și rata de excreție a compusului specific utilizat; durata tratamentului; medicamentele utilizate în combinație sau coincidental cu compusul specific utilizat, și factori asemănători bine cunoscuți în domeniul medical. Termenul „pacient”, așa cum s-a utilizat în acest document, înseamnă un animal, cum ar fi un mamifer, și chiar un om.

În unele realizări, divulgarea este de asemenea direcționată spre compuși și compoziții pentru utilizare în metode de tratament utilizând compuși marcați izotopic ai compușilor menționați mai sus, care au aceleași structuri ca cele descrise aici, cu excepția faptului că unul sau
35 mai mulți atomi din acestea au fost înlocuiți cu un atom sau atomi având o masă atomică sau un număr de masă care diferă de masa atomică sau numărul de masă al atomului care apare de obicei natural (izotop marcat). Exemple de izotopi care sunt disponibili comercial și adecvați pentru divulgare includ izotopi de hidrogen, carbon, azot, oxigen, fosfor, fluor și clor, de exemplu 2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F și respectiv ^{36}Cl .

40 Compușii marcați izotopic și sărurile lor se pot utiliza în numeroase moduri benefice. Ei pot fi adecvați pentru medicamente și/sau diferite tipuri de teste, cum ar fi teste de distribuție în țesut sau substrat. De exemplu, compușii marcați cu tritium (^3H)- și/sau carbon-14 (^{14}C) sunt utili în special pentru diferite tipuri de teste, cum ar fi teste de distribuție în țesut sau substrat, din cauza preparării relativ simple și a detectabilității excelente. De exemplu, cei marcați cu deuteriu (^2H) sunt utili terapeutic cu potențiale avantaje terapeutice față de compușii nemarcați cu ^2H . În general,
45 compușii marcați cu deuteriu (^2H) și sărurile lor pot avea stabilitate metabolică mai ridicată în comparație cu cei care nu sunt marcați cu izotop din cauza efectului izotopic cinetic descris mai jos. Stabilitatea metabolică mai ridicată se traduce direct într-un timp de înjumătățire crescut *in vivo* sau în doze mai mici, ceea ce ar putea fi de dorit. Compușii și sărurile marcate cu izotopi se pot prepara de obicei prin efectuarea procedeele divulgate în schemele de sinteză și în descrierea aferentă, în partea de exemple și în partea de preparare din prezentul text, înlocuind un reactant nemarcat cu izotopi cu un reactant marcat cu izotopi, ușor disponibil.

În unele realizări, compușii și sărurile marcate cu izotopi sunt cei marcați cu deuteriu (^2H). În unele realizări specifice, compușii și sărurile marcate cu izotopi sunt marcați cu deuteriu (^2H), în
55 care unul sau mai mulți atomi de hidrogen din aceștia au fost înlocuiți cu deuteriu. În structurile chimice, deuteriul este reprezentat ca „ ^2H ” sau „D”.

Compușii și sărurile marcate cu deuteriu (^2H) pot manipula metabolismul oxidativ al compusului prin intermediul efectului izotopic cinetic primar. Efectul izotopic cinetic primar este o schimbare a vitezei unei reacții chimice care rezultă din schimbul de nuclee izotopice, care la
60 rândul său este cauzat de schimbarea energiilor stării fundamentale necesare formării legăturii covalente după acest schimb izotopic. Schimbul unui izotop mai greu are ca rezultat, de obicei,

scăderea energiei stării fundamentale pentru o legătură chimică și, prin urmare, determină o reducere a ruperii legăturii limitative a vitezei. Dacă ruperea legăturii are loc în sau în vecinătatea unei regiuni în șa de-a lungul coordonatei unei reacții multi-produși, raporturile de distribuție a produsului pot fi modificate substanțial. Pentru explicație: dacă deuteriul este legat la un atom de carbon la o poziție care nu poate fi schimbată, diferențele de viteză $kM/kD = 2-7$ sunt tipice. Pentru o discuție suplimentară, a se vedea S. L. Harbeson și R. D. Tung, Deuterium In Drug Discovery and Development, Ann. Rep. Med. Chem. 2011, 46, 403-417; și T.G. Gant "Using deuterium in drug discovery: leaving the label in the drug" J. Med. Chem. 2014, 57, 3595-3611.

Concentrația de izotop(i) (de exemplu, deuteriu) încorporați în compuși și sărurile marcate din divulgare poate fi definită de către factorul de îmbogățire izotopică. Termenul „factor de îmbogățire izotopică” așa cum s-a utilizat în acest document înseamnă raportul între abundența izotopică și abundența naturală a unui izotop specificat. În unele realizări, dacă un substituent într-un compus din divulgare este denumit deuteriu, un astfel de compus are un factor de îmbogățire izotopică pentru fiecare atom de deuteriu denumit de cel puțin 3500 (52,5% încorporare de deuteriu la fiecare deuteriu atom denumit), cel puțin 4000 (60% încorporare de deuteriu), cel puțin 4500 (67,5% încorporare de deuteriu), cel puțin 5000 (75% încorporare de deuteriu), cel puțin 5500 (82,5% încorporare de deuteriu), cel puțin 6000 (90% încorporare de deuteriu), cel puțin 6333,3 (95% încorporare de deuteriu), cel puțin 6466,7 (97% încorporare de deuteriu), cel puțin 6600 (99% încorporare de deuteriu), sau cel puțin 6633,3 (99,5% încorporare de deuteriu).

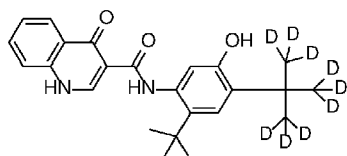
Când descoperă și dezvoltă agenți terapeutici, specialistul în domeniu încearcă să optimizeze parametrii farmacocinetici păstrând în același timp proprietățile de dorit *in vitro*. Poate fi rezonabil să presupunem că mulți compuși cu profiluri farmacocinetice slabe sunt susceptibili la metabolism oxidativ.

Un specialist în domeniu va înțelege că deuterarea uneia sau mai multor poziții labile metabolic pe un compus sau un metabolit activ poate conduce la ameliorarea uneia sau mai multor proprietăți DMPK superioare menținând în același timp activitatea biologică comparativ cu analogii corespunzători, cu hidrogen. Proprietatea sau proprietățile DMPK superioare pot avea un impact asupra expunerii, timpului de înjumătățire, clearance-ului, metabolismului și/sau chiar a cerințelor alimentare pentru absorbția optimă a produsului medicamentos. Deuterarea poate modifica, de asemenea, metabolismul în alte poziții nedeuterate ale compusului deuterat.

În unele realizări, divulgarea include derivați deuterati ai noilor compuși divulgați aici ai sărurilor acceptabile farmaceutice. Exemplele nelimitative de compuși deuterati sunt divulgate în FIG. 1.

În unele realizări, Compusul III' așa cum s-a utilizat în acest document include compusul deuterat divulgat în Brevetul S.U.A. nr. 8865902, și CTP-656.

În unele realizări, Compusul III' este:



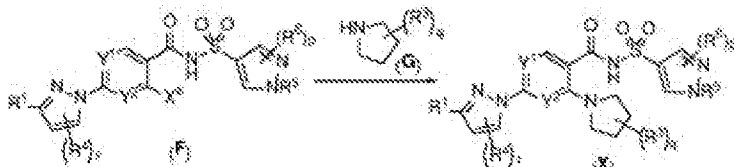
Compușii invenției (de exemplu, Compusul 1), sărurile acceptabile farmaceutice ale acestora, și derivații deuterati ai oricăruia dintre cei de mai sus, se pot prepara prin metode adecvate cunoscute în domeniu. De exemplu, ei pot fi preparați în conformitate cu procedeele descrise în WO 2016/057572 și cu exemplele de sinteză descrise mai jos în Exemple. De exemplu, derivații deuterati ai compușilor cu Formulele (I) - (VI) și sărurile acceptabile farmaceutice ale acestora se pot prepara într-o manieră similară cu cea pentru compușii cu Formulele (I) - (VI) și sărurile acceptabile farmaceutice ale acestora prin utilizarea intermediarilor și/sau reactivilor în care unul sau mai mulți atomi de hidrogen sunt înlocuiți cu deuteriu. De exemplu, vezi T.G. Gant "Using deuterium in drug discovery: leaving the label in the drug," J. Med. Chem. 2014, 57, 3595-3611.

Compușii cu Formulele (X), (III), (IV), (V), și (VI) și sărurile acceptabile farmaceutice ale acestora, și derivați deuterati din oricare dintre cei de mai sus se pot prepara ca în Schemele 1-2 prezentate, în care variabilele lor sunt fiecare și în mod independent ca cele pentru Formula (I), (II), (III), (IV), (V), sau (VI) de mai sus, și în care fiecare R^a este ales în mod independent dintre grupări alchil C_1-C_4 ; și fiecare X^a este ales în mod independent dintre F sau Cl. Condițiile adecvate cunoscute în domeniu pot fi utilizate pentru fiecare etapă reprezentată în schemă. În unele realizări, fiecare X^a pentru Formulele (B), (C), (D), (F), (B-1), (C-1), (D-1), și (F-1) în Schemele 2-4 este în mod independent Cl. În unele realizări, fiecare X^a pentru Formulele (D), (L), (O), și (P)

în Schema 6 este în mod independent F. În unele realizări, r în Formulele (X), (B), (C), (D), și (F) este în mod independent 0.

- 5 Așa cum se arată în Schema 1, metodele cuprind reacția unui compus cu Formula (F) sau a unei sări a acestuia cu un compus cu Formula (G) sau o sare a acestuia pentru a genera un compus cu Formula (X), o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei de mai sus.

Schema 1



- De exemplu, în Formulele menționate (F), (G) și (X):
- 10 ☐ unul din Y¹ și Y² este N și celălalt este CH;
 - ☐ R¹ este -(C(R²)₂)_k-O-(C(R²)₂)_mR⁷,
 - ☐ fiecare R² este ales în mod independent dintre hidrogen; halogeni; ciano; hidroxi; grupări alcoxi C₁-C₂; și grupări alchil C₁-C₂ substituite opțional cu unul sau mai mulți substituenți fiecare ales în mod independent dintre halogeni, hidroxi, și grupări cicloalchil C₃-5 substituite opțional cu
 - 15 unul sau mai mulți substituenți fiecare ales în mod independent dintre grupări alchil C₁-C₂, grupări alchil C₁-C₂ halogenate, și halogeni;
 - ☐ fiecare R³ este ales în mod independent dintre grupări alchil C₁-C₄ substituite opțional cu una sau mai multe grupări hidroxil, sau opțional doi R³ geminali, împreună cu atomul de carbon la care ei sunt atașați, formează un cicloalchil C₃₋₄;
 - 20 ☐ fiecare R⁴ este ales în mod independent dintre halogeni;
 - ☐ R⁵ este ales dintre hidrogen și grupări alchil C₁-C₄;
 - ☐ fiecare R⁶ este ales dintre halogeni, ciano, hidroxi, hidroxiometil, grupări alcoxi C₁-C₂, grupări alchil C₁-C₂, și grupări alchil C₁-C₂ halogenate;
 - ☐ R⁷ este ales dintre hidrogen, halogeni, ciano, grupări alchil C₁-C₂ substituite opțional cu
 - 25 unul sau mai mulți substituenți fiecare ales în mod independent dintre halogeni și hidroxi, și grupări cicloalchil C₃-C₁₀ substituite opțional cu unul sau mai mulți substituenți fiecare ales în mod independent dintre grupări alchil C₁-C₂, grupări alchil C₁-C₂ halogenate, și halogeni;
 - ☐ X^a este F sau Cl;
 - ☐ k este 0 sau 1;
 - 30 ☐ r este 0 sau 1;
 - ☐ m este 0, 1, 2, sau 3;
 - ☐ p este 0, 1, sau 2; și
 - ☐ q este 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, sau 8.

De exemplu, r în Formula (X) este 0.

- 35 Orice condiții adecvate, cum ar fi cele pentru o reacție nucleofilă a aminei, cunoscute în domeniu pot fi utilizate. De exemplu, reacția reprezentată în Schema 1 este efectuată în prezența unei baze, cum ar fi un carbonat de metal (de exemplu, Na₂CO₃ sau K₂CO₃).

- De exemplu, compușii cu Formula (X), săruri acceptabile farmaceutic ale acestora, sau derivați deuterati din oricare dintre cei anteriori, în care Y² este N și Y¹ este CH în fiecare din
- 40 Formulele (F), (G) și (X), sunt preparați prin metodele din Schema 1. De exemplu, este utilizată o sare a unui compus cu Formula (G). De exemplu, este utilizată o sare HCl a unui compus cu Formula (G).

- Un compus cu Formula (F) sau o sare a acestuia și un compus cu Formula (G) sau o sare a acestuia se pot prepara prin orice metodă adecvată cunoscută în domeniu, de exemplu, cele
- 45 din WO 2016/57572 și cele din sintezele exemplare descrise mai jos în Exemple.

- Așa cum se arată în Schema 2, un compus cu Formula (F), o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei de mai sus se prepară printr-o metodă care cuprinde reacția unui compus cu Formula (D) sau o sare a acestuia cu un compus cu Formula (E) sau o sare a acestuia. De exemplu, compușii cu Formula (D), sărurile acestuia, sau derivați
- 50 deuterati din oricare dintre cele anterioare sunt preparați printr-o metodă care cuprinde reacția unui compus cu Formula (A) sau o sare a acestuia cu un compus cu Formula (B) sau o sare a acestuia pentru a genera un compus cu Formula (C) sau o sare a acestuia; și hidrolizarea -C(O)OR^a a compusului cu Formula (C) pentru a genera un compus cu Formula (D) sau o sare a acestuia. Orice condiții adecvate cunoscute în domeniu pot fi utilizate pentru etape (a), (b), și (c) din Schema 2 de

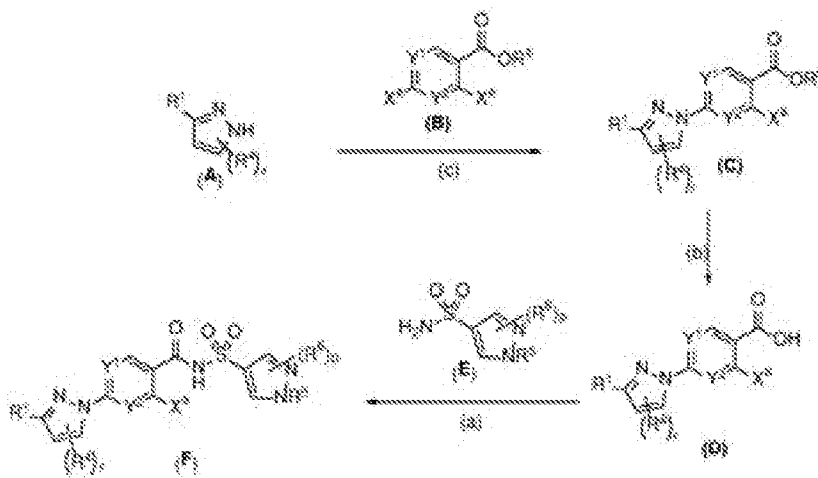
mai jos, cum ar fi cele pentru o reacție de cuplare între acid carboxilic și sulfonamidă sau cele pentru o acilare a sulfonamidei pentru etapa (a), cele pentru hidroliza esterului pentru etapa (b), și cele pentru o reacție nucleofilă a aminei pentru etapa (c).

De exemplu, etapa (a) din Schema 2 de mai jos este efectuată în prezența unei baze. De exemplu, etapa (a) este efectuată în prezența unei baze non-nucleofile. De exemplu, în etapa (a), reacția unui compus cu Formula (D) sau o sare a acestuia cu un compus cu Formula (E) sau o sare a acestuia cuprinde reacția unui compus cu Formula (D) sau o sare a acestuia cu un reactiv de cuplare, cum ar fi carbonil diimidazol (CDI), și ulterior cu un compus cu Formula (E) sau o sare a acestuia în prezența unei baze, cum ar fi o bază non-nucleofilă. De exemplu, un compus cu Formula (D) sau o sare a acestuia reacționează cu CDI înainte de reacție cu un compus cu Formula (E) sau o sare a acestuia, și apoi ulterior cu un compus cu Formula (E) sau o sare a acestuia în prezența unei baze, cum ar fi DBU (1,8-diazabicyclo(5,4,0)undec-7-enă).

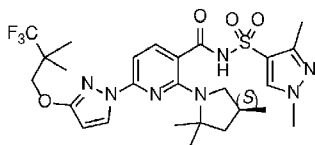
De exemplu, etapa (b) din Schema 2 de mai jos este efectuată în prezența unei baze. De exemplu, etapa (b) este efectuată în prezența unei baze apoase, cum ar fi hidroxid apos. De exemplu, etapa (b) este efectuată în prezența unui hidroxid apos de metal, cum ar fi NaOH apos. De exemplu, etapa (b) din Schema 2 de mai jos este efectuată în prezența unui acid. De exemplu, etapa (b) este efectuată în prezența unui acid apos, cum ar fi un HCl apos.

De exemplu, etapa (c) din Schema 2 de mai jos este efectuată în prezența unei baze. În unele realizări, etapa (c) este efectuată în prezența unui carbonat de metal (de exemplu, Na_2CO_3 sau K_2CO_3).

Schema 2



Un compus al invenției cu formula următoare (Compusul 1):

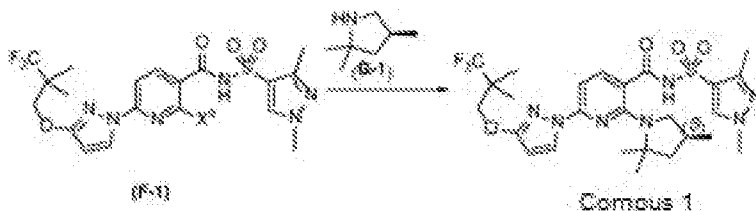


25

o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori se poate prepara prin metode descrise aici. Metoda cuprinde reacția unui compus cu Formula (F-1) sau o sare a acestuia cu un compus cu Formula (G-1) sau o sare a acestuia, în care X^a este F sau Cl, așa cum se arată în Schema 3:

30

Schema 3



Orice condiții adecvate, cum ar fi cele pentru o reacție nucleofilă a aminei, cunoscute în domeniu pot fi utilizate. În unele realizări, reacția reprezentată în Schema 3 este efectuată în prezența unei baze, cum ar fi un carbonat de metal (de exemplu, Na_2CO_3 sau K_2CO_3).

În unele realizări, este utilizată o sare a compusului cu Formula (G-1). În unele realizări, este utilizată o sare HCl a unui compus cu Formula (G-1).

Un compus cu Formula (F-1) sau o sare a acestuia și un compus cu Formula (G-1) sau o sare a acestuia se poate prepara prin orice metodă adecvată cunoscută în domeniu, de exemplu, cele din WO 2016/57572 și cele din sintezele exemplare descrise mai jos în Exemple.

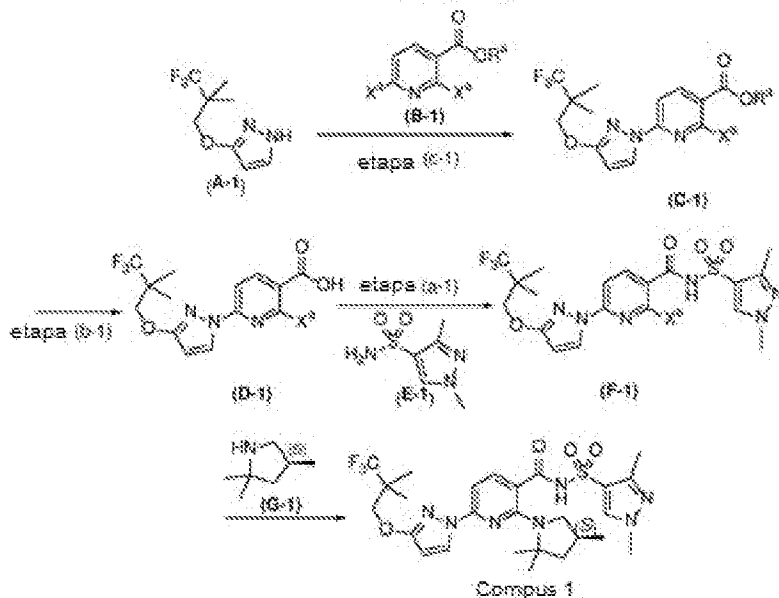
În unele realizări, așa cum se arată în Schema 4, un compus cu Formula (F-1) sau o sare a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori este preparat printr-o metodă care cuprinde reacția unui compus cu Formula (D-1) sau o sare a acestuia cu un compus cu Formula (E-1) sau o sare a acestuia. În unele realizări, compușii cu Formula (D-1) sau sărurile acestora, sau derivați lor deuterati sunt preparați printr-o metodă care cuprinde reacția unui compus cu Formula (A-1) sau o sare a acestuia cu un compus cu Formula (B-1) sau o sare a acestuia pentru a genera un compus cu Formula (C-1) sau o sare a acestuia; și hidrolizarea compusului $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ cu Formula (C-1) sau a sării acestuia pentru a genera un compus cu Formula (D-1) sau o sare a acestuia. Orice condiții adecvate cunoscute în domeniu pot fi utilizate pentru etapele (a-1), (b-1), și (c-1) din Schema 4 de mai jos, cum ar fi cele pentru o reacție de cuplare între acid carboxilic și sulfonamidă sau cele pentru o acilare a sulfonamidei pentru etapa (a-1), cele pentru hidroliza esterului pentru etapa (b-1), și cele pentru o reacție nucleofilă a aminei pentru etapa (c-1).

În unele realizări, etapa (a-1) din Schema 4 de mai jos este efectuată în prezența unei baze. În unele realizări, etapa (a-1) din Schema 4 de mai jos este efectuată în prezența unei baze non-nucleofile. În unele realizări, în etapa (a-1), reacția unui compus cu Formula (D-1) sau a unei sări a acestuia cu un compus cu Formula (E-1) sau o sare a acestuia cuprinde reacția unui compus cu Formula (D-1) sau o sare a acestuia cu un reactiv de cuplare, cum ar fi carbonil diimidazol (CDI), și ulterior cu un compus cu Formula (E-1) sau o sare a acestuia în prezența unei baze, cum ar fi o bază non-nucleofilă. În unele realizări, (i) un compus cu Formula (D-1) sau o sare a acestuia reacționează cu CDI înainte de reacția cu un compus cu Formula (E-1) sau o sare a acestuia, și apoi ulterior (ii) produsul reacției din etapa (i) reacționează cu un compus cu Formula (E-1) sau o sare a acestuia în prezența unei baze, cum ar fi DBU (1,8-diazabicyclo(5,4,0)undec-7-enă).

În unele realizări, etapa (b-1) din Schema 4 de mai jos este efectuată în prezența unei baze. În unele realizări, etapa (b-1) este efectuată în prezența unui baze apoasă, cum ar fi hidroxid apos. În unele realizări, etapa (b-1) este efectuată în prezența unui hidroxid apos de metal, cum ar fi NaOH apos. În unele realizări, etapa (b-1) din Schema 4 de mai jos este efectuată în prezența unui acid. În unele realizări, etapa (b-1) este efectuată în prezența unui acid apos, cum ar fi un HCl apos.

În unele realizări, etapa (c-1) din Schema 4 de mai jos este efectuată în prezența unei baze. În unele realizări, etapa (c-1) este efectuată în prezența unui carbonat de metal (de exemplu, Na_2CO_3 sau K_2CO_3).

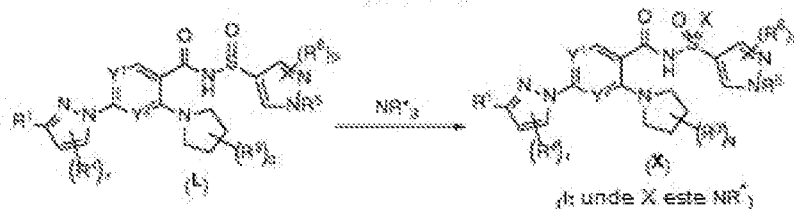
Schema 4



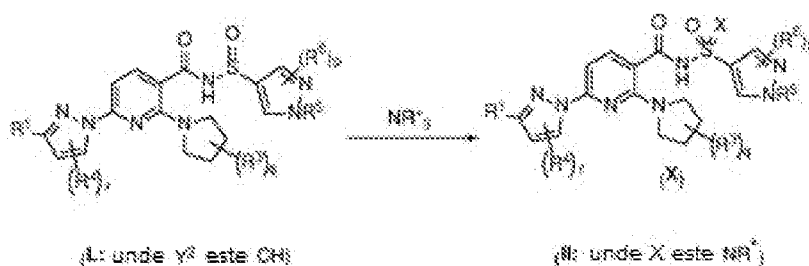
În Schema 4, R^a este ales dintre grupări alchil C_1 - C_4 ; și fiecare X^a este în mod independent F sau Cl.

- De exemplu, metodele de preparare a unui compus cu Formulele (I) și (II), în care X este NH sau N(alchil C_1 - C_4) sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori, cuprinde reacția unui compus cu Formula (L) sau o sare a acestuia cu NR^*_3 unde R^* este H sau alchil C_1 - C_4 , așa cum s-a reprezentat în Schemele 5 și 6:

Schema 5

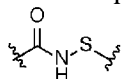


Schema 6



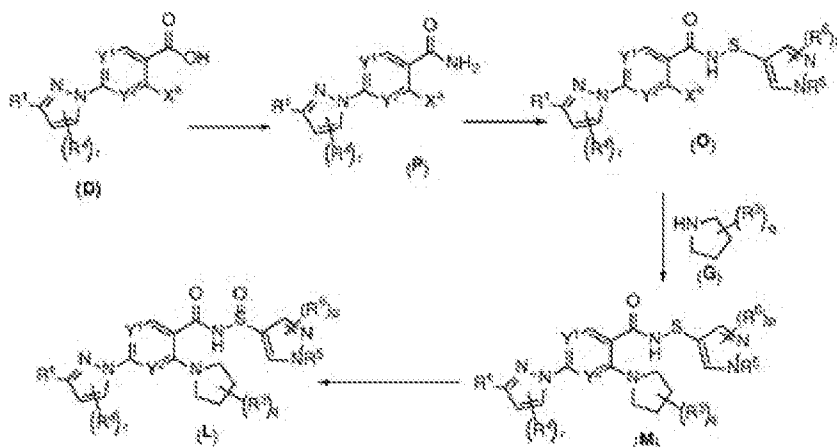
- Orice condiții adecvate cunoscute în domeniu pot fi utilizate pentru reacția de sulfoxaminare, de exemplu, pentru cele pentru adiții electrofile de amine. De exemplu, reacția de sulfoxaminare este efectuată în prezența unui agent de clorurare sau oxidare, cum ar fi N-clorosuccinimidă (NCS).

- De exemplu, un compus cu Formula (L) sau o sare a acestuia este preparat printr-o metodă cuprinzând oxidarea unității sulf din gruparea



dintr-un compus cu Formula (M) sau o sare a acestuia așa cum se arată în Schema 7 de mai jos:

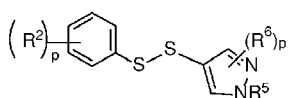
Schema 7



Orice condiții adecvate cunoscute în domeniu pot fi utilizate pentru reacția de oxidare. În unele realizări, oxidarea este efectuată în prezența unui acid peroxicarboxilic, cum ar fi acid meta-cloroperoxibenzoic (m-CPBA).

- 5 De exemplu, un compus cu Formula (M) sau o sare a acestuia se prepară printr-o metodă cuprinzând reacția unui compus cu Formula (O) cu un compus cu Formula (G) sau o sare a acestuia. Orice condiții adecvate cunoscute în domeniu pot fi utilizate.

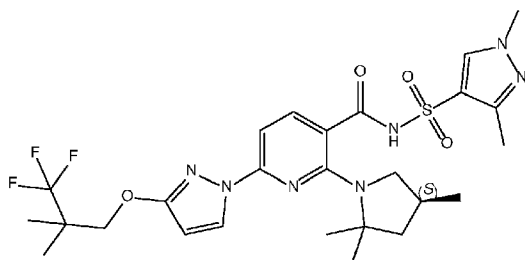
- De exemplu, un compus cu Formula (O) sau o sare a acestuia se prepară printr-o metodă cuprinzând reacția unui compus cu Formula (P) sau a unei sări a acestuia cu o fenil disulfură cu Formula (Q):



- 15 În unele realizări, un compus cu Formula (P) sau o sare a acestuia se prepară prin amidarea grupării $-C(O)OH$ dintr-un compus cu Formula (D) sau sare a acestuia. Pot fi utilizate orice condiții adecvate cunoscute în domeniu.

Realizările suplimentare includ:

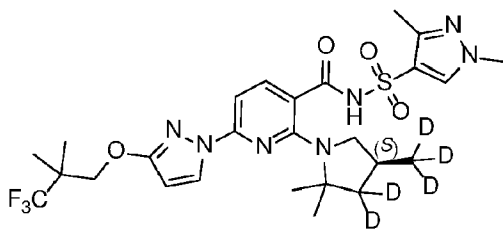
1. Un compus având formula următoare:



20

o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori.

2. Un compus în conformitate cu realizarea 1 având formula următoare:

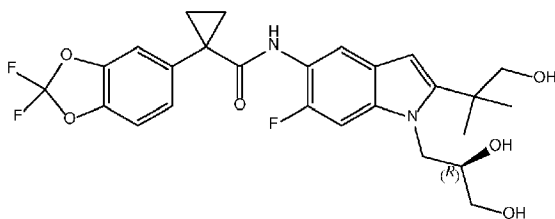


sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

3. O compoziție farmaceutică cuprinzând cel puțin un compus ales dintre compușii din realizarea 1 sau realizarea 2, o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori.

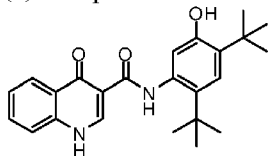
Compoziția farmaceutică din realizarea 3 poate cuprinde opțional suplimentar unul sau mai mulți dintre:

(a) Compus II:



o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori;

(b) Compus III:

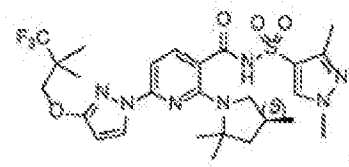


- o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori; și (c) un purtător acceptabil farmaceutic.

4. Un compus din realizarea 1 sau realizarea 2, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori, sau o compoziție farmaceutică în conformitate cu realizarea 3 pentru utilizare într-o metodă de tratare a fibrozei chistice.

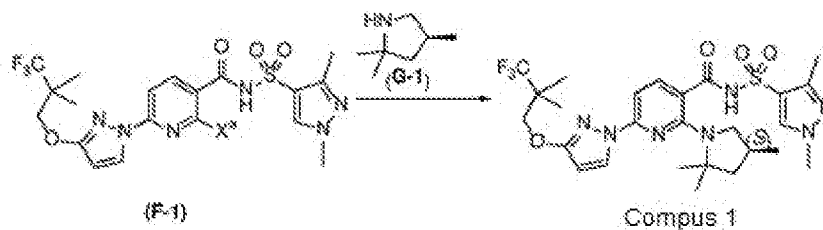
- Compusul invenției se poate prepara utilizând metode în conformitate cu oricare dintre realizările 46-61.

46. O metodă de preparare a unui compus cu formula următoare:



(Compus 1)

- sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori, cuprinzând reacția unui compus cu Formula (F-1) sau o sare a acestuia, în care X^a este F sau Cl, cu un compus cu Formula (G-1) sau o sare a acestuia pentru a genera compusul menționat sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori:



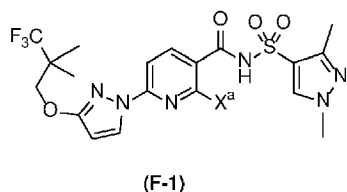
in care X^a in Formula (F-1) este F sau Cl.

47. Metoda din realizarea 46, in care reacția menționată a unui compus cu Formula (F-1) sau a unei sări a acestuia cu un compus cu Formula (G-1) sau o sare a acestuia este efectuată în prezența unei baze.

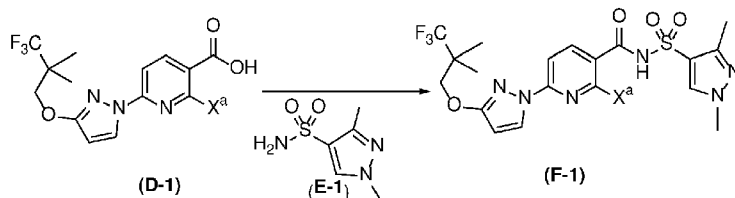
48. Metoda din realizarea 46 sau 47, in care este utilizată o sare a compusului cu Formula (G-1).

49. Metoda din realizarea 48, in care sarea menționată a compusului cu Formula (G-1) este o sare HCl a unui compus cu Formula (G-1).

50. O metodă de preparare a unui compus cu Formula (F-1) sau o sare a acestuia:



sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori, cuprinzand reacția unui compus cu Formula (D-1) și a unui compus cu Formula (E-1) pentru a genera un compus cu Formula (F-1) sau o sare a acestuia:

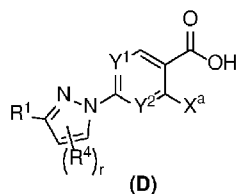


in care in fiecare din formulele menționate, X^a este F sau Cl.

51. Metoda din realizarea 50, in care reacția menționată a unui compus cu Formula (D-1) sau a unei sări a acestuia cu un compus cu Formula (E-1) sau o sare a acestuia este efectuată în prezența unei baze.

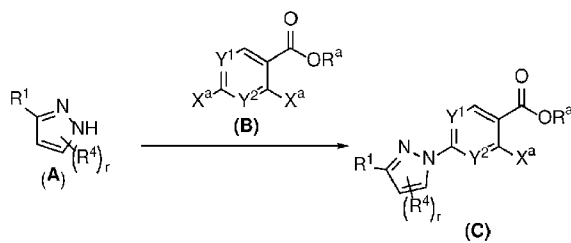
52. Metoda din realizarea 50, in care reacția menționată a unui compus cu Formula (D-1) sau o sare a acestuia cu un compus cu Formula (E-1) sau o sare a acestuia cuprinde reacția unui compus cu Formula (D-1) cu un reactiv de cuplare și ulterior cu un compus cu Formula (E-1) în prezența unei baze.

53. O metodă de preparare a unui compus cu Formula (D) sau a unei sări a acestuia:



sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori, cuprinzand:

(i) reacția unui compus cu Formula (A) sau a unei sări a acestuia cu un compus cu Formula (B) sau o sare a acestuia pentru a genera un compus cu Formula (C) sau o sare a acestuia:



și

(ii) hidrolizarea grupării $-C(O)OR^a$ dintr-un compus cu Formula (C) pentru a genera un compus cu Formula (D) sau o sare a acestuia,

5 in care în fiecare din formulele menționate:

☐ unul dintre Y^1 și Y^2 este N și celălalt este CH;

☐ R^1 este $-(C(R^2)_2)_k-O-(C(R^2)_2)_mR^7$,

☐ fiecare R^2 este ales în mod independent dintre hidrogen; halogeni; ciano; hidroxi; grupări alcoxi C_1-C_2 ; și grupări alchil C_1-C_2 substituie opțional cu unul sau mai mulți substituenți fiecare ales în mod independent dintre halogeni, hidroxi, și grupări cicloalchil C_3-5 substituie opțional cu unul sau mai mulți substituenți fiecare ales în mod independent dintre grupări alchil C_1-C_2 , grupări alchil C_1-C_2 halogenate, și halogeni;

10

☐ fiecare R^4 este ales în mod independent dintre halogeni;

15

☐ R^7 este ales dintre hidrogen, halogeni, ciano, grupări alchil C_1-C_2 substituie opțional cu unul sau mai mulți substituenți fiecare ales în mod independent dintre halogeni și hidroxi, și grupări cicloalchil C_3-C_{10} substituie opțional cu unul sau mai mulți substituenți fiecare ales în mod independent dintre grupări alchil C_1-C_2 , grupări alchil C_1-C_2 halogenate, și halogeni;

☐ X^a este F sau Cl;

☐ k este 0 sau 1;

20

☐ r este 0 sau 1; și

☐ m este 0, 1, 2, sau 3.

54. Metoda din realizarea 53, în care Y^2 este N; și Y^1 este CH.

55. Metoda din realizarea 53 sau 54, în care hidroliza grupării $-C(O)OR^a$ este efectuată în prezența unei baze sau a unui acid.

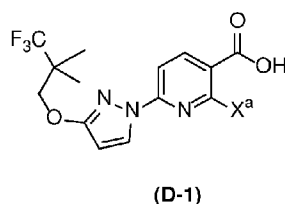
25

56. Metoda din oricare dintre realizările 53-55, în care reacția menționată a unui compus cu Formula (A) sau a unei sări a acestuia cu un compus cu Formula (B) sau o sare a acestuia este efectuată în prezența unei baze.

57. Metoda din oricare dintre realizările 53-56, în care R^a este etil sau *t*-butil.

58. O metodă de preparare a unui compus cu Formula (D-1) sau a unei sări a acestuia:

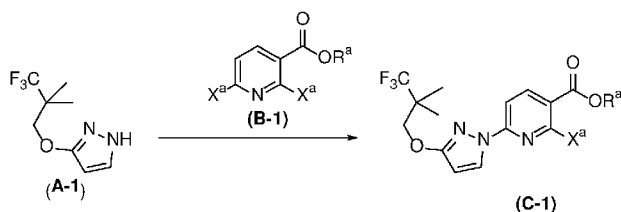
30



sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori, cuprinzand:

(i) reacția unui compus cu Formula (A-1) sau a unei sări a acestuia și a unui compus cu Formula (B-1) sau a unei sări a acestuia pentru a genera un compus cu Formula (C-1) sau o sare a acestuia:

35



și

(ii) hidrolizarea grupării $-C(O)OR^a$ dintr-un compus cu Formula (C-1) sau o sare a acestuia pentru a genera un compus cu Formula (D-1) sau o sare a acestuia,

40

in care în fiecare din formulele menționate, fiecare R^a este ales în mod independent dintre alchil C_1-C_4 ; și fiecare X^a este în mod independent F sau Cl.

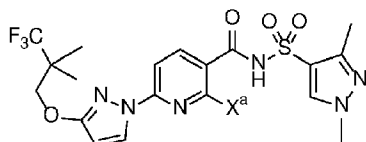
59. Metoda din realizarea 58, în care hidroliza grupării $-C(O)OR^a$ este efectuată în prezența unei baze sau a unui acid.

60. Metoda din 58 sau 59, în care reacția menționată a unui compus cu Formula (A-1) sau a unei sări a acestuia și un compus cu Formula (B-1) sau o sare a acestuia este efectuată în prezența unei baze.

61. Metoda din oricare dintre realizările 58-60, în care R^a este etil sau *t*-butil.

Compușii cu Formula (A-1), (C-1), (D-1) și (F-1) așa cum s-au definit în realizările 64, și 68-70 sunt utili ca intermediari pentru prepararea compusului invenției.

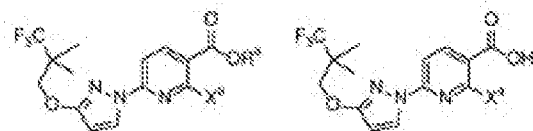
64. Un compus cu Formula (F-1) sau o sare a acestuia:



(F-1)

sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori, în care X^a este F sau Cl.

68. Un compus cu Formula (C-1) sau (D-1), sau o sare a acestuia:



(C-1)

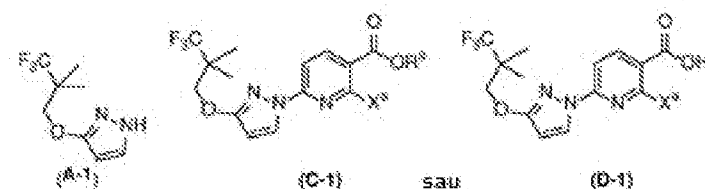
sau

(D-1)

sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori, în care R^a este alchil C_1-C_4 ; și fiecare X^a este în mod independent F sau Cl.

69. Un compus în conformitate cu realizarea 68, o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori, în care R^a este etil sau *t*-butil.

70. Un compus cu Formula (A-1), (C-1) sau (D-1), sau o sare a acestuia:



(A-1)

(C-1)

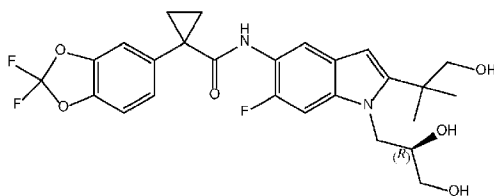
sau

(D-1)

sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori, în care R^a este alchil C_1-C_4 ; și fiecare X^a este în mod independent F sau Cl.

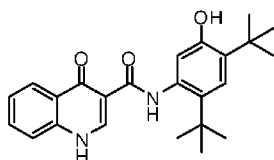
71. Cel puțin un compus ales dintre compuși din realizarea 1 sau realizarea 2, o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori, și opțional unul sau mai mulți dintre:

(a) Compus II:



o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori; și

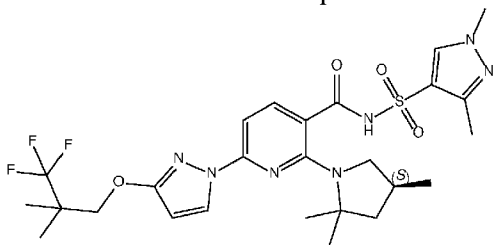
(b) Compus III:



o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori, pentru tratarea fibrozei chistice.

Compusul 1 poate fi furnizat într-o formă cristalină, sau solvat, în conformitate cu realizări 72-96.

72. Formă cristalină A a Compusului 1:



1.

73. Formă cristalină A în conformitate cu realizarea 72 în formă substanțial pură.

74. Formă cristalină A în conformitate cu realizarea 72, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la cel puțin trei valori doi-teta alese dintre $6,6 \pm 0,2$, $7,6 \pm 0,2$, $9,6 \pm 0,2$, $12,4 \pm 0,2$, $13,1 \pm 0,2$, $15,2 \pm 0,2$, $16,4 \pm 0,2$, $18,2 \pm 0,2$, și $18,6 \pm 0,2$.

75. Formă cristalină A în conformitate cu realizarea 72, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la cel puțin trei valori doi-teta alese dintre $6,6 \pm 0,2$, $9,6 \pm 0,2$, $13,1 \pm 0,2$, $15,2 \pm 0,2$, $18,2 \pm 0,2$, și $18,6 \pm 0,2$.

76. Formă cristalină A în conformitate cu realizarea 72, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la trei valori doi-teta de $6,6 \pm 0,2$, $13,1 \pm 0,2$, $18,2 \pm 0,2$.

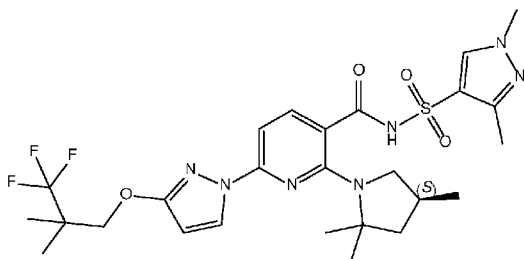
77. Formă cristalină A în conformitate cu realizarea 72, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la șase valori doi-teta de $6,6 \pm 0,2$, $9,6 \pm 0,2$, $13,1 \pm 0,2$, $15,2 \pm 0,2$, $18,2 \pm 0,2$, și $18,6 \pm 0,2$.

78. Formă cristalină A din realizarea 72, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere substanțial similară cu cea din FIG. 2.

79. Formă cristalină A a Compusului 1 preparată printr-un procedeu cuprinzând desolvarea cel puțin a unei forme cristaline a Compusului 1 aleasă dintre Forma cristalină M, Forma cristalină E, Formacristalină P1, Formă cristalină P2, și Formă cristalină AA2.

80. Formă cristalină A a Compusului 1 preparat printr-un procedeu cuprinzând desolvatarea cel puțin a unui solvat ales din metanol solvați, etanol solvați, acid acetic solvați, toluen solvați, sulfolan solvați, 1-propanol solvați, 2-propanol solvați, acid propionic solvați, metil *tert*-butil eter solvați, și acid izobutiric solvați ai Compusului 1 (cum ar fi, de exemplu, metanol solvați, etanol solvați, acid acetic solvați, toluen solvați, sulfolan solvați, acid propionic solvați, metil *tert*-butil eter solvați, și acid izobutiric solvați ai Compusului 1, în plus cum ar fi, de exemplu, metanol solvați, etanol solvați, acid acetic solvați, toluen solvați, și sulfolan solvați ai Compusului 1, și în plus cum ar fi, de exemplu, metanol solvați și etanol solvați ai Compusului 1) urmată de supunerea rezultatelor desolvate pentru uscarea în vid la temperatura camerei timp de 12 până la 100 ore.

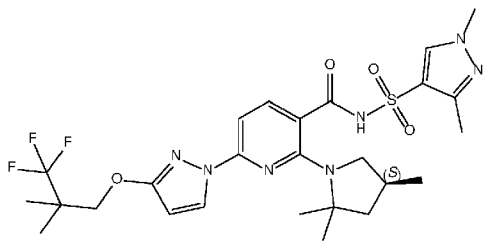
81. Cel puțin un solvat al Compusului 1:



1

ales dintre metanol solvați, etanol solvați, 1-propanol solvați, 2-propanol solvați, acid acetic solvați, toluen solvați, sulfolan solvați, acid propionic solvați, metil *tert*-butil eter solvați, acid izobutiric solvați, anisol solvați, metilbutil cetonă solvați, și xilen solvați ai Compusului 1.

83. Formă cristalină M a Compusului 1:



1.

84. Formă cristalină M în conformitate cu realizarea 83 în formă substanțial pură.

85. Formă cristalină M în conformitate cu realizarea 83, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la cel puțin trei valori doi-teta alese dintre $7,0 \pm 0,2$, $11,6 \pm 0,2$, $13,1 \pm 0,2$, $13,7 \pm 0,2$, $15,2 \pm 0,2$, $15,9 \pm 0,2$, $16,4 \pm 0,2$, $17,8 \pm 0,2$, și $19,3 \pm 0,2$.

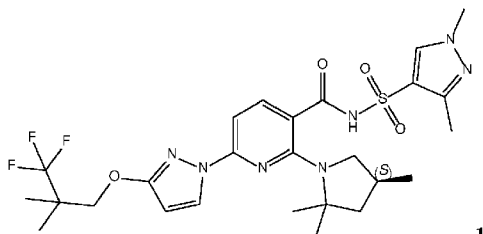
86. Formă cristalină M în conformitate cu realizarea 83, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la cel puțin trei valori doi-teta alese dintre $11,6 \pm 0,2$, $13,1 \pm 0,2$, $13,7 \pm 0,2$, $15,2 \pm 0,2$, $17,8 \pm 0,2$, și $19,3 \pm 0,2$.

87. Formă cristalină M în conformitate cu realizarea 83, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la trei valori doi-teta de $11,6 \pm 0,2$, $17,8 \pm 0,2$, și $13,1 \pm 0,2$.

88. Formă cristalină M în conformitate cu realizarea 83, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la șase valori doi-teta de $11,6 \pm 0,2$, $13,1 \pm 0,2$, $13,7 \pm 0,2$, $15,2 \pm 0,2$, $17,8 \pm 0,2$, și $19,3 \pm 0,2$.

89. Formă cristalină M din realizarea 83, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere substanțial similară cu cea din FIG. 13.

90. Formă cristalină E a Compusului 1:



1.

91. Formă cristalină E în conformitate cu realizarea 90 în formă substanțial pură.

92. Formă cristalină E în conformitate cu realizarea 90, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la cel puțin trei valori doi-teta alese dintre $7,0 \pm 0,2$, $11,2 \pm 0,2$, $12,8 \pm 0,2$, $13,2 \pm 0,2$, $14,1 \pm 0,2$, $15,1 \pm 0,2$, $16,1 \pm 0,2$, $17,8 \pm 0,2$, și $18,9 \pm 0,2$.

93. Formă cristalină E în conformitate cu realizarea 90, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la cel puțin trei valori doi-teta alese dintre $11,2 \pm 0,2$, $12,8 \pm 0,2$, $13,2 \pm 0,2$, $15,1 \pm 0,2$, $16,1 \pm 0,2$, și $17,8 \pm 0,2$.

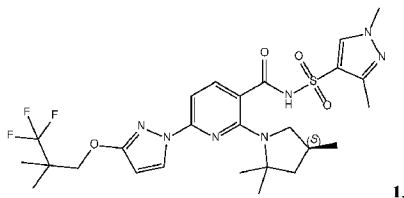
94. Formă cristalină E în conformitate cu realizarea 90, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la trei valori doi-teta de $12,8 \pm 0,2$, $16,1 \pm 0,2$, și $17,8 \pm 0,2$.

95. Formă cristalină E în conformitate cu realizarea 90, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la șase valori doi-teta de $11,2 \pm 0,2$, $12,8 \pm 0,2$, $13,2 \pm 0,2$, $15,1 \pm 0,2$, $16,1 \pm 0,2$, și $17,8 \pm 0,2$.

96. Formă cristalină E din realizarea 90, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere substanțial similară cu cea din FIG. 14.

Compusul 1 poate fi furnizat într-o formă cristalină preparată printr-o metodă în conformitate cu realizarea 97 sau realizarea 98.

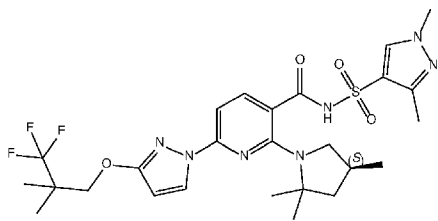
97. O metodă de preparare a formei cristaline A a Compusului 1:



1.

cuprinzând agitarea unei soluții sau suspensii a Compusului 1 într-un sistem de solvent la o temperatură într-un interval de la 50°C până la 85°C .

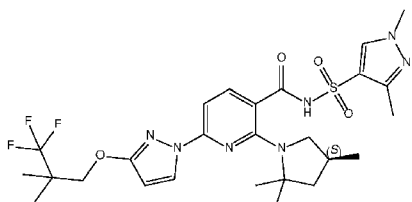
98. O metodă de preparare a formei cristaline A a Compusului 1:



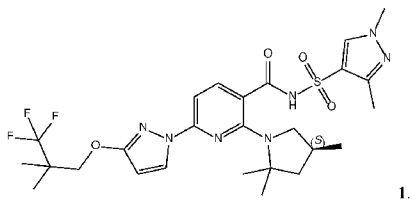
- cuprinzand desolvatarea unui solvat al Compusului 1 ales dintre metanol solvați, etanol solvați, 1-propanol solvați, 2-propanol solvați, acid acetic solvați, toluen solvați, sulfolan solvați, acid propionic solvați, metil *terț*-butil eter solvați, acid izobutiric solvați, anisol solvați, metilbutil cetonă solvați, și xilen solvați ai Compusului 1.

Compusul 1 poate fi furnizat într-o formă cristalină în conformitate cu realizările 99-112.

99. O formă cristalină X a unei sări de potasiu a Compusului 1:



100. Formă cristalină X în conformitate cu realizarea 99 în formă substanțial pură.
101. Formă cristalină X în conformitate cu realizarea 99, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la cel puțin trei valori doi-teta alese dintre $4,9 \pm 0,2$, $5,9 \pm 0,2$, $8,1 \pm 0,2$, $8,5 \pm 0,2$, $10,3 \pm 0,2$, $13,0 \pm 0,2$, $13,9 \pm 0,2$, $14,6 \pm 0,2$, și $17,0 \pm 0,2$.
102. Formă cristalină X în conformitate cu realizarea 99, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la cel puțin trei valori doi-teta alese dintre $4,9 \pm 0,2$, $5,9 \pm 0,2$, $8,1 \pm 0,2$, $13,0 \pm 0,2$, $13,9 \pm 0,2$, și $17,0 \pm 0,2$.
103. Formă cristalină X în conformitate cu realizarea 99, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la trei valori doi-teta de $4,9 \pm 0,2$, $5,9 \pm 0,2$, și $13,0 \pm 0,2$.
104. Formă cristalină X în conformitate cu realizarea 99, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la șase valori doi-teta de $4,9 \pm 0,2$, $5,9 \pm 0,2$, $8,1 \pm 0,2$, $13,0 \pm 0,2$, $13,9 \pm 0,2$, și $17,0 \pm 0,2$.
105. Formă cristalină X din realizarea 99, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere substanțial similară cu cea din FIG. 15.
106. O formă cristalină Y a unei sări de sodiu a Compusului 1:



107. Formă cristalină Y în conformitate cu realizarea 106 în formă substanțial pură.
108. Formă cristalină Y în conformitate cu realizarea 106, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la cel puțin trei valori doi-teta alese dintre $3,5 \pm 0,2$, $7,0 \pm 0,2$, $11,7 \pm 0,2$, $12,8 \pm 0,2$, $13,2 \pm 0,2$, $14,2 \pm 0,2$, $15,4 \pm 0,2$, $16,6 \pm 0,2$, și $18,0 \pm 0,2$.
109. Formă cristalină Y în conformitate cu realizarea 106, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la cel puțin trei valori doi-teta alese dintre $3,5 \pm 0,2$, $7,0 \pm 0,2$, $11,7 \pm 0,2$, $13,2 \pm 0,2$, $14,2 \pm 0,2$, și $18,0 \pm 0,2$.
110. Formă cristalină Y în conformitate cu realizarea 106, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la trei valori doi-teta de $7,0 \pm 0,2$, $11,7 \pm 0,2$, și $13,2 \pm 0,2$.
111. Formă cristalină Y în conformitate cu realizarea 106, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la șase valori doi-teta de $3,5 \pm 0,2$, $7,0 \pm 0,2$, $11,7 \pm 0,2$, $13,2 \pm 0,2$, $14,2 \pm 0,2$, și $18,0 \pm 0,2$.
112. Formă cristalină Y din realizarea 106, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere substanțial similară cu cea din FIG. 16.

Compusul 1 poate fi furnizat într-o dispersie solidă în conformitate cu oricare dintre realizările 113-115.

113. O dispersie solidă cuprinzând Compusul 1 și un polimer.

114. Dispersia solidă din realizarea 113, cuprinzând 50 % în greutate Compus 1 și 50 % în greutate dintr-un polimer din greutatea totală a dispersiei solide sau 80 % în greutate Compus 1 și 20 % în greutate dintr-un polimer din greutatea totală a dispersiei solide.

- 5 115. Dispersia solidă din realizarea 113 sau 114, în care polimerul este acetat succinat hipromeloză, hidroxipropil celuloză, hidroxipropil metilceluloză, sau polivinilpirolidonă.

Compusul 1 poate fi furnizat într-o formulare farmaceutică în conformitate cu realizarea 116.

- 10 116. O formulare farmaceutică cuprinzând cel puțin o formă cristalină în conformitate cu oricare dintre realizările 72 - 96 și 99 - 112, și un purtător acceptabil farmaceutic.

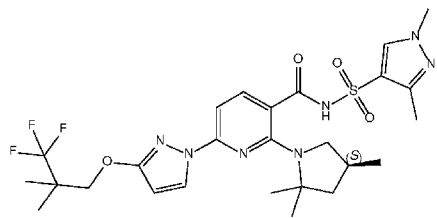
Compusul 1 poate fi furnizat ca formă cristalină pentru utilizare în conformitate cu realizarea 117, sau ca dispersie solidă pentru utilizare în conformitate cu realizarea 118.

- 15 117. O formă cristalină în conformitate cu oricare dintre realizările 72-96, și 199 - 112 pentru utilizare într-o metodă de tratare a fibrozei chistice cuprinzând administrarea la un pacient care are nevoie de aceasta a cel puțin unei forme cristaline în conformitate cu oricare dintre realizările 72-96, și 199 - 112.

118. O dispersie solidă în conformitate cu oricare dintre realizările 113 - 115 pentru utilizare într-o metodă de tratare a fibrozei chistice cuprinzând administrarea la un pacient care are nevoie de aceasta a unei dispersii solide în conformitate cu oricare dintre realizările 113 - 115.

- 20 Compusul 1 poate fi furnizat ca formă cristalină în conformitate cu oricare dintre realizările 119-125

119. Formă cristalină P2 a Compusului 1:



- 25 120. Formă cristalină P2 în conformitate cu revendicarea 119 în formă substanțial pură.

121. Formă cristalină P2 în conformitate cu revendicarea 119, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la cel puțin trei valori doi-teta alese dintre $10,2 \pm 0,2$, $10,9 \pm 0,2$, $12,6 \pm 0,2$, $12,9 \pm 0,2$, $15,0 \pm 0,2$, $15,9 \pm 0,2$, $16,2 \pm 0,2$, $16,5 \pm 0,2$, și $17,6 \pm 0,2$.

- 30 122. Formă cristalină P2 în conformitate cu revendicarea 119, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la cel puțin trei valori doi-teta alese dintre $10,9 \pm 0,2$, $12,6 \pm 0,2$, $12,9 \pm 0,2$, $15,0 \pm 0,2$, $16,5 \pm 0,2$, și $17,6 \pm 0,2$.

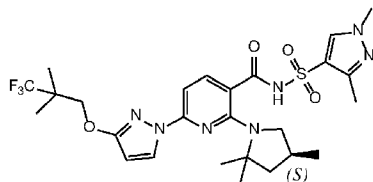
123. Formă cristalină P2 în conformitate cu revendicarea 119, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la trei valori doi-teta de $10,9 \pm 0,2$, $12,6 \pm 0,2$, și $17,6 \pm 0,2$.

- 35 124. Formă cristalină P2 în conformitate cu revendicarea 119, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere având un semnal la șase valori doi-teta de $10,9 \pm 0,2$, $12,6 \pm 0,2$, $12,9 \pm 0,2$, $15,0 \pm 0,2$, $16,5 \pm 0,2$, și $17,6 \pm 0,2$.

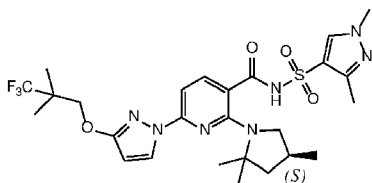
125. Formă cristalină P2 conform revendicării 119, caracterizată printr-o difractogramă cu raze X pe pulbere substanțial similară cu cea din FIG. 17.

Alte realizări ale invenției includ:

- 40 A. Compusul 1 cu formula

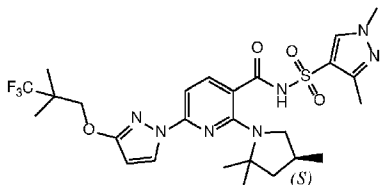


B. o sare acceptabilă farmaceutică a Compusului 1 cu formula



C. O compoziție farmaceutică cuprinzând:

(i) Compusul 1 cu formula



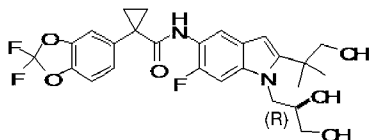
5

și

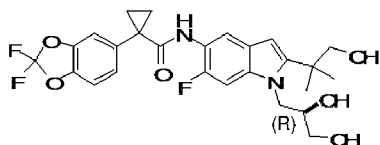
(ii) un purtător acceptabil farmaceutic.

D. Compoziția farmaceutică din realizarea C cuprinzând în plus Compusul II:

10

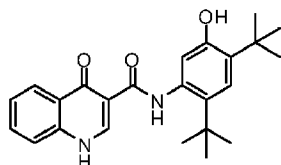


E. Compoziția farmaceutică din realizarea C cuprinzând în plus o sare acceptabilă farmaceutică a Compusului II:



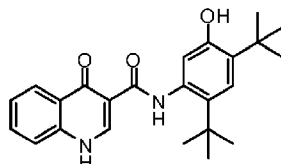
15

F. Compoziția farmaceutică din realizarea C cuprinzând în plus Compusul III:

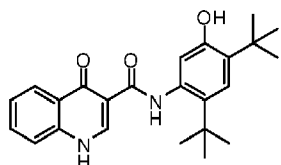


20

G. Compoziția farmaceutică din realizarea C cuprinzând în plus o sare acceptabilă farmaceutică a Compusului III:

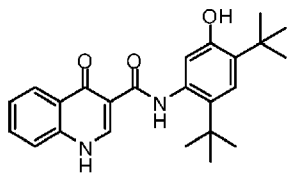


H. Compoziția farmaceutică din realizarea D cuprinzând în plus Compusul III:

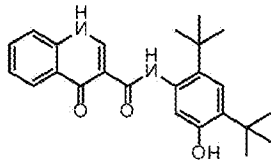


25

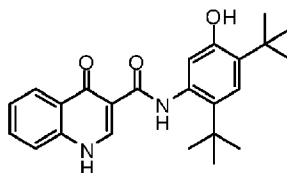
I. Compoziția farmaceutică din realizarea D cuprinzând în plus o sare acceptabilă farmaceutică a Compusului III:



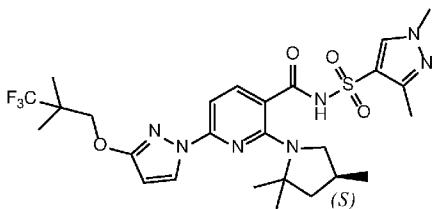
J. Compoziția farmaceutică din realizarea E cuprinzând în plus Compus III:



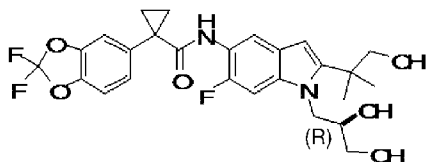
- 5 K. Compoziția farmaceutică din realizarea E cuprinzând în plus o sare acceptabilă farmaceutică a Compusului III:



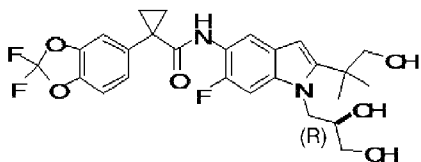
- 10 L. O compoziție farmaceutică cuprinzând:
(A) o sare acceptabilă farmaceutică a Compusului 1 cu formula



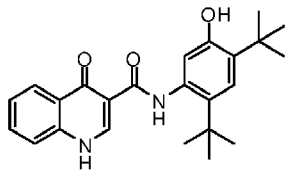
- 15 și
(B) un purtător acceptabil farmaceutic.
M. Compoziția farmaceutică din realizarea L cuprinzând în plus Compusul II:



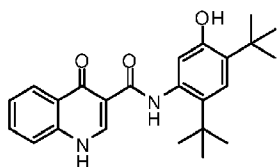
- 20 N. Compoziția farmaceutică din realizarea L cuprinzând în plus o sare acceptabilă farmaceutică a Compusului II:



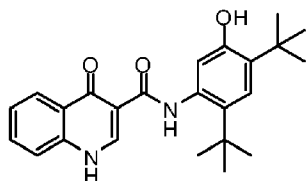
O. Compoziția farmaceutică din realizarea L cuprinzând în plus Compusul III:



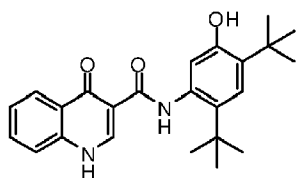
- 25 P. Compoziția farmaceutică din realizarea L cuprinzând în plus o sare acceptabilă farmaceutică a Compusului III:



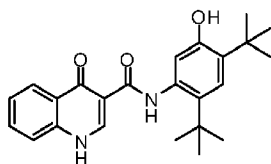
Q. Compoziția farmaceutică din realizarea M cuprinzând în plus Compusul III:



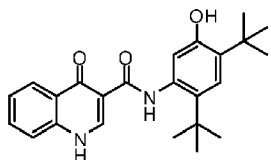
5 R. Compoziția farmaceutică din realizarea M cuprinzând în plus o sare acceptabilă farmaceutică a Compusului III:



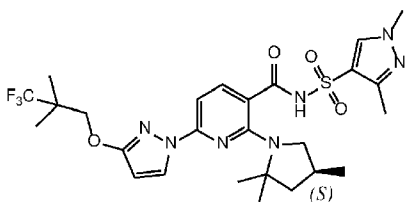
10 S. Compoziția farmaceutică din realizarea M cuprinzând în plus Compusul III:



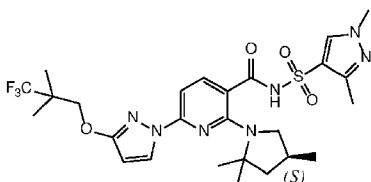
T. Compoziția farmaceutică din realizarea M cuprinzând în plus o sare acceptabilă farmaceutică a Compusului III:



15 U. Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă de tratare a fibrozei chistice cuprinzând administrarea la un pacient care are nevoie de aceasta a Compusului 1 cu formula

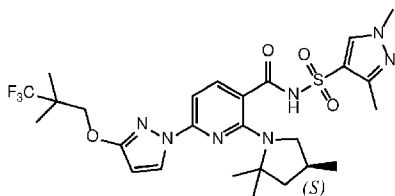


20 V. O sare acceptabilă farmaceutică a Compusului 1 pentru utilizare într-o metodă de tratare a fibrozei chistice cuprinzând administrarea la un pacient care are nevoie de aceasta a unei sări acceptabile farmaceutică a Compusului 1 cu formula



25 W. O compoziție farmaceutică cuprinzând Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă de tratare a fibrozei chistice cuprinzând administrarea la un pacient care are nevoie de aceasta a unei compoziții farmaceutice cuprinzând:

(A) Compusul 1 cu formula

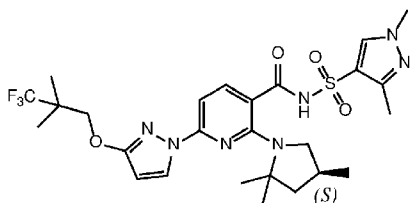


5 și

(B) un purtător acceptabil farmaceutic.

X. O compoziție farmaceutică cuprinzând Compusul 1 pentru utilizare într-o metodă de tratare a fibrozei chistice cuprinzând administrarea la un pacient care are nevoie de aceasta a unei compoziții farmaceutice cuprinzând:

10 o sare acceptabilă farmaceutic a Compusului 1 cu formula



și

15 un purtător acceptabil farmaceutic.

Procedee experimentale generale

Definițiile anumitor abrevieri pentru exemplele de mai jos sunt rezumate mai jos:

Boc anhidridă (Boc)₂O: di-*terț*-butil dicarbonat

CDI: carbonil diimidazol

20 DABCO: 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octan

DBU: 1,8-diazabicyclo(5,4,0)undec-7-enă

DCM: diclorometan

DIAD: azodicarboxilat de diizopropil

DIEA (DIPEA; *N,N*-diizopropiletilamină)

25 DMA: *N,N*-Dimetilacetamidă

DMF: *N,N*-dimetilformamidă

DMSO: dimetil sulfoxid

Et₂O: dietil eter

EtOH: etanol

30 HATU: hexafluorofosfat de 1-[bis(dimetilamino)metilen]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]piridiniu 3-oxid

IPA: izoproanol

MeOH: metanol

NMP: *N*-metil-2-pirolidonă

MTBE: metil *terț*-butil eter

35 TBS-Cl: clorură de *terț*-butildimetilsilil

TFA: acid trifluoroacetic

THF: tetrahidrofuran)

p-TsOH: acid *p*-toluensulfonic

complex TPPO-DIAD: un complex de trifenilfosfin oxid cu azodicarboxilat de diizopropil

40 Reactivii și materiile prime s-au obținut din surse comerciale dacă nu s-a afirmat altfel și s-au utilizat fără purificare. Spectrele RMN de proton și carbon au fost dobândite fie pe un spectrometru Bruker Biospin DRX 400 MHz FTNMR care funcționează la o frecvență de rezonanță a ¹H și ¹³C de 400 și respectiv 100 MHz, sau pe un spectrometru RMN 300 MHz. Spectrele unidimensionale de protoni și carbon au fost achiziționate folosind o sondă de observare în bandă largă (BBFO) cu rotație a probei de 20 Hz la rezoluție digitală de 0,1834 și respectiv 0,9083 Hz/Pt. Toate spectrele de protoni și carbon au fost achiziționate cu controlul temperaturii la 30 ° C folosind secvențe de impuls standard, publicate anterior și parametri de procesare de rutină. Puritatea finală a compușilor a fost determinată prin UPLC cu fază inversă utilizând o Coloană Acquity UPLC BEH C18 (50 × 2,1 mm, particule 1,7 μm) fabricată de Waters (pn: 186002350), și un gradient dublu parcurs de la 1-99% fază mobilă B în timp de 3,0 minute. Faza mobilă A = H₂O

(0,05 % $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$). Faza mobilă B = CH_3CN (0,035 % $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$). Debit = 1,2 mL/min, volum de injecție = 1,5 μL , și temperatura coloanei = 60 °C. Puritatea finală a fost calculată prin calcularea mediei suprafeței de sub curbă (ASC) a două urme UV (220 nm, 254 nm). Spectrele de masă cu rezoluție scăzută au fost raportate ca specii $[\text{M} + \text{H}]^+$ obținute folosind un spectrometru de masă cu un singur cvadropol echipat cu o sursă de ionizare prin electrospray (ESI) capabil să obțină o precizie de masă de 0,1 și o rezoluție minimă de 1000 (fără unități la rezoluție) pe toată gama de detecție. Puritatea optică a (2S)-2,4-dimetil-4-nitro-pentanoatului de metil a fost determinată utilizând cromatografie de gaz chirală (GC) pe un instrument Agilent 7890A/MSD 5975C, utilizând o coloană Restek Rt- β DEXcst (30m x 0,25mm x 0,25 μm _df), cu un debit 2,0 mL/min (gaz purtător H_2), la o temperatură de injecție de 220°C și o temperatură a cuptorului de 120°C, 15 minute.

Difracția razelor X pe pulbere

Măsurătorile de difracție cu raze X pe pulbere au fost efectuate folosind difractometrul X-pert Pro de la PANalytical la temperatura camerei cu radiație de cupru (1,54060 Å). Fasciculul optic incident a fost compus dintr-o fantă de divergență variabilă pentru a asigura o lungime constantă iluminată pe probă și pe partea razei difractate; s-a folosit un detector de stare solidă liniar rapid cu o lungime activă de 2,12 grade 2 teta măsurată într-un mod de scanare. Proba de pulbere a fost ambalată pe zona indentată a unui suport de siliciu de fond zero și rotirea a fost efectuată pentru a obține statistici mai bune. O scanare simetrică a fost măsurată de la 4 - 40 grade 2 teta cu o mărime a pasului de 0,017 grade și un timp de scanare de 15,5 secunde.

Figura 2 prezintă spectrul XRPD al Formei A a Compusului 1. Structura monocristalului din Forma A a fost elucidată. Structura cristalului confirmă configurația absolută al moleculei, și tiparele XRPD calculate arată un acord bun cu tiparele experimentale. Forma A a Compusului 1 se formează ca o unitate celulară ortorombică P212121, $a = 15,74$ $b = 22,86$ $c = 26,59$ (angstromi), $\alpha = \beta = \gamma = 90$, $Z = 12$ $V = 9575$ Flack = 0,08. Un specialist în domeniu va recunoaște că pot exista variații ale acestor parametri ai cristalului în funcție, de exemplu, de temperatura, presiunea sau variațiile de la instrument la instrument.

Figura 3 prezintă un spectru XRPD experimental al Formei A a Compusului 1 (sus) comparativ cu un XRD calculat (jos), care este calculat din datele monocristalului. Figura 3 prezintă o suprapunere a XRPD experimentală cu cea calculată a Formei A a Compusului 1 din Figura 3.

Figura 5 prezintă spectrul XRPD al Compusului 1 amorf preparat prin dispersie uscată prin pulverizare(SDD) de 50 % în greutate Compus 1 în HPMCAS-HG.

Calorimetrie cu scanare diferențială modulată (MDSC)

MDSC a fost utilizată pentru a determina temperatura de tranziție vitroasă a materialului amorf. MDSC a fost efectuată utilizând calorimetrul de scanare diferențială TA Discovery DSC (TA Instrumentes, New Castle, DE). Instrumentul a fost calibrat cu indiu. Probe de aproximativ 1-3 mg au fost cântărite în vase ermetice care au fost sertizate folosind capace cu o gaură. Proba MDSC a fost scanată de la -20 ° C la 200 ° C la o rată de încălzire de 2 ° C/min cu +/- 1 ° C a modulării în decurs de 1 minut. Datele au fost colectate și analizate de TA Instrumentes Trios Software (TA Instrumentes, New Castle, DE).

Figura 6 prezintă un spectru MDSC al unei dispersii uscate prin pulverizare (SDD) de 50 % în greutate Compus 1 în HPMCAS-HG, și arată că SDD are o temperatură a punctului de mijloc de aproximativ 106°C.

Analiza unui monocristal

Datele de difracție a razelor X au fost dobandite la 100K sau 298K pe un difractometru Bruker echipat cu radiație Mo K_α ($\lambda = 0,71073$ Å) sau radiație Cu K_α ($\lambda = 1,5478$) și un detector CCD. Structura a fost rezolvată și rafinată utilizând SHELX Software (Sheldrick, G.M., Acta Cryst., (2008) A64, 112-122).

Analiza termogravimetrică (TGA)

TGA a fost utilizată pentru a investiga prezența solvenților reziduali în porțiunile caracterizate, și a identifica temperatura la care apare descompunerea probei. Datele TGA au fost colectate pe un Analizor Termogravimetric TA Discovery sau un instrument echivalent. O probă cu greutate de aproximativ 1-5 mg a fost scanată de la 25 °C până la 350 °C la o viteză de încălzire de 10 °C/min. Datele au fost colectate și analizate de către Trios software (TA Instrumentes, New Castle, DE) sau colectate de către Thermal Advantage Q Series™ software și analizate de Universal Analysis software (TA Instruments, New Castle, DE).

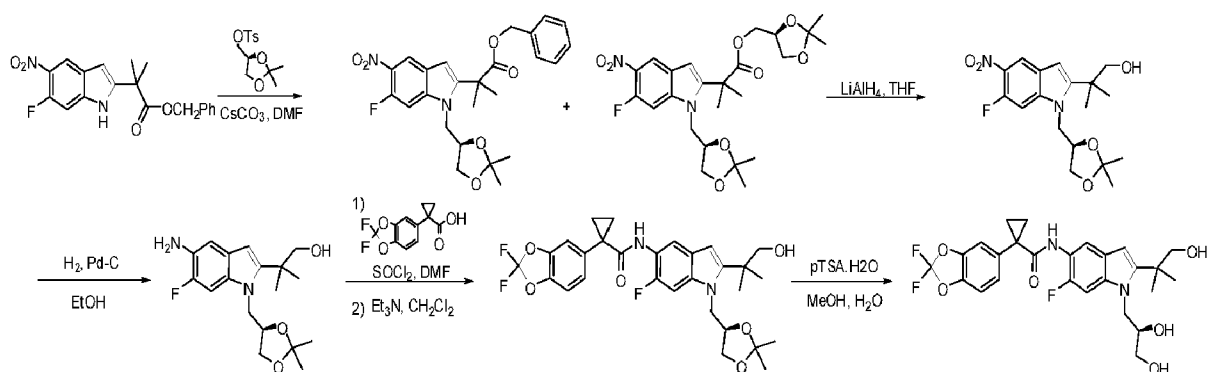
Calorimetrie cu scanare diferențială (DSC)

Datele DSC au fost dobandite utilizand un instrument TA Instruments Q2000 sau unul echivalent. O probă cu o greutate între 1 și 10 mg a fost cântărită într-un vas de aluminiu. Acest vas a fost plasat în poziția probei în celula calorimetrului. Un vas gol a fost plasat în poziția de

referință. Celula calorimetrului a fost închisă și un curent de azot a fost trecut prin celula. Programul de încălzire a fost setat să încălzească proba la o viteză de încălzire de 10° C/min până la o temperatură de 200-350° C. Când rularea a fost finalizată, datele au fost analizate folosind programul de analiză DSC din software-ul sistemului. Endotermele și exotermele observate au fost integrate între punctele de temperatură de bază care erau peste și sub intervalul de temperatură în care a fost observată endoterma. Datele raportate au fost debutul temperaturii de descompunere, temperatura varfului și entalpia.

Exemple de sinteză

Sinteză Compusului II: (R)-1-(2,2-Difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(1-(2,3-dihidroxiopropil)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)-1H-indol-5-il)ciclopropancarboxamidă



Etapa 1: (R)-2-(1-((2,2-Dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-6-fluoro-5-nitro-1H-indol-2-il)-2-metilpropanoat de benzil și ((S)-2-(1-(((R)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-6-fluoro-5-nitro-1H-indol-2-il)-2-metilpropanoat de 2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil

Carbonat de cesiu (8,23 g, 25,3 mmol) s-a adăugat la un amestec de 2-(6-fluoro-5-nitro-1H-indol-2-il)-2-metilpropanoat de benzil (3,0 g, 8,4 mmol) și (S)-4-metilbenzensulfonat de (2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil (7,23 g, 25,3 mmol) în DMF (N,N-dimetilformamidă) (17 mL). Masa de reacție a fost agitată la 80 °C timp de 46 ore sub o atmosferă de azot. Amestecul a fost apoi partiționat între acetat de etil și apă. Stratul apos a fost extras cu acetat de etil. Straturile combinate de acetat de etil au fost spălate cu saramură, uscate pe MgSO₄, filtrate și concentrate. Produsul brut, un ulei maro vascos care conține ambele produse prezentate mai sus, a fost preluat direct în etapa următoare fără purificare suplimentară. (R)-2-(1-((2,2-Dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-6-fluoro-5-nitro-1H-indol-2-il)-2-metilpropanoat de benzil, ESI-MS *m/z* calc. 470,2, găsit 471,5 (M+1)⁺. Timp de retenție 2,20 minute. ((S)-2-(1-(((R)-2,2-Dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-6-fluoro-5-nitro-1H-indol-2-il)-2-metilpropanoat de 2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil, ESI-MS *m/z* calc. 494,5, găsit 495,7 (M+1)⁺ Timp de retenție 2,01 minute.

Etapa 2: (R)-2-(1-((2,2-Dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-6-fluoro-5-nitro-1H-indol-2-il)-2-metilpropan-1-ol

Amestecul de reacție brut obținut în etapa (A) a fost dizolvat în THF (tetrahidrofuran) (42 mL) și răcit într-o baie de apă-gheață. S-a adăugat în picătură LiAlH₄ (16,8 mL, soluție 1 M 16,8 mmol). După ce adăugarea a fost completă, amestecul a fost agitat timp de încă 5 minute. Masa de reacție a fost stinsă prin adăugare de apă (1 mL), soluție 15% de NaOH (1 mL) și apoi apă (3 mL). Amestecul a fost filtrat pe Celite, și solidele au fost spălate cu THF și acetat de etil. Filtratul a fost concentrat și purificat prin cromatografie pe coloană (acetat de etil-hexani 30-60%) pentru a obține (R)-2-(1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-6-fluoro-5-nitro-1H-indol-2-il)-2-metilpropan-1-ol ca ulei maro (2,68g, 87 % în 2 etape). ESI-MS *m/z* calc. 366,4, găsit 367,3 (M+1)⁺. Timp de retenție 1,68 minute. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,34 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,65 (d, J = 13,4 Hz, 1H), 6,57 (s, 1H), 4,94 (t, J = 5,4 Hz, 1H), 4,64 - 4,60 (m, 1H), 4,52 - 4,42 (m, 2H), 4,16 - 4,14 (m, 1H), 3,76 - 3,74 (m, 1H), 3,63 - 3,53 (m, 2H), 1,42 (s, 3H), 1,38 - 1,36 (m, 6H) și 1,19 (s, 3H) ppm. (DMSO este dimetilsulfoxid).

Etapa 3: (R)-2-(5-Amino-1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-6-fluoro-1H-indol-2-il)-2-metilpropan-1-ol

(R)-2-(1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-6-fluoro-5-nitro-1H-indol-2-il)-2-metilpropan-1-ol (2,5 g, 6,82 mmol) a fost dizolvat în etanol (70 mL) și masa de reacție a fost suflată cu N₂. Apoi s-a adăugat Pd-C (250 mg, 5% în greutate). Masa de reacție a fost suflată cu azot din nou și apoi agitată sub H₂ (atm). După 2,5 ore s-a observat doar conversie parțială la produs, prin LCMS. Masa de reacție a fost filtrată prin Celite și concentrată. Rezidulul a fost resupus la condițiile de mai sus. După 2 ore LCMS a indicat conversia completă la produs.

Amestecul de reacție a fost filtrat prin Celite. Filtratul a fost concentrat pentru a da produsul (1,82 g, 79 %). ESI-MS m/z calc. 336,2, găsit 337,5 (M+1)⁺. Timp de retenție 0,86 minute. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,17 (d, J = 12,6 Hz, 1H), 6,76 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 6,03 (s, 1H), 4,79 - 4,76 (m, 1H), 4,46 (s, 2H), 4,37 - 4,31 (m, 3H), 4,06 (dd, J = 6,1, 8,3 Hz, 1H), 3,70 - 3,67 (m, 1H), 3,55 - 3,52 (m, 2H), 1,41 (s, 3H), 1,32 (s, 6H) și 1,21 (s, 3H) ppm.

Etapă 4: (R)-1-(2,2-Difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)-1H-indol-5-il)ciclopropancarboxamidă

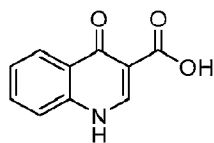
DMF (3 picături) s-a adăugat sub agitare la un amestec de acid 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropancarboxilic (1,87 g, 7,7 mmol) și clorură de tionil (1,30 mL, 17,9 mmol). După 1 oră s-a format o soluție limpede. Soluția a fost concentrată sub vid și apoi s-a adăugat toluen (3 mL) și amestecul a fost concentrat din nou. Etapa cu toluen a fost repetată încă o dată și reziduul a fost plasat la vid înaintat timp de 10 minute. Clorura acidă a fost apoi dizolvată în diclorometan (10 mL) și adăugată la un amestec de (R)-2-(5-amino-1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-6-fluoro-1H-indol-2-il)-2-metilpropan-1-ol (1,8 g, 5,4 mmol) și trietilamină (2,24 mL, 16,1 mmol) în diclorometan (45 mL). Masa de reacție a fost agitată la temperatura camerei timp de 1 oră. Masa de reacție a fost spălată cu soluție de HCl 1N, soluție saturată de NaHCO₃ și saramură, uscată pe MgSO₄ și concentrată pentru a da produsul (3g, 100%). ESI-MS m/z calc. 560,6, găsit 561,7 (M+1)⁺. Timp de retenție 2,05 minute. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,31 (s, 1H), 7,53 (s, 1H), 7,42 - 7,40 (m, 2H), 7,34 - 7,30 (m, 3H), 6,24 (s, 1H), 4,51 - 4,48 (m, 1H), 4,39 - 4,34 (m, 2H), 4,08 (dd, J = 6,0, 8,3 Hz, 1H), 3,69 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 3,58 - 3,51 (m, 2H), 1,48 - 1,45 (m, 2H), 1,39 (s, 3H), 1,34 - 1,33 (m, 6H), 1,18 (s, 3H) și 1,14 - 1,12 (m, 2H) ppm.

Etapă 5: (R)-1-(2,2-Difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(1-(2,3-dihidroxiopropil)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)-1H-indol-5-il)ciclopropancarboxamidă

(R)-1-(2,2-Difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)-1H-indol-5-il)ciclopropancarboxamidă (3,0 g, 5,4 mmol) a fost dizolvată în metanol (52 mL). S-a adăugat apă (5,2 mL) urmată de *p*-TsOH.H₂O (acid *p*-toluensulfonic hidrat) (204 mg, 1,1 mmol). Masa de reacție a fost încălzită la 80 °C timp de 45 minute. Soluția a fost concentrată și apoi partiționată între acetat de etil și soluție saturată de NaHCO₃. Stratul de acetat de etil a fost uscat pe MgSO₄ și concentrat. Reziduul a fost purificat prin cromatografie pe coloană (acetat de etil - hexani 50-100 %) pentru a da produsul. (1,3 g, 47 %, ee >98% prin SFC). ESI-MS m/z calc. 520,5, găsit 521,7 (M+1)⁺. Timp de retenție 1,69 minute. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,31 (s, 1H), 7,53 (s, 1H), 7,42 - 7,38 (m, 2H), 7,33 - 7,30 (m, 2H), 6,22 (s, 1H), 5,01 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 4,90 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 4,75 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 4,40 (dd, J = 2,6, 15,1 Hz, 1H), 4,10 (dd, J = 8,7, 15,1 Hz, 1H), 3,90 (s, 1H), 3,65 - 3,54 (m, 2H), 3,48 - 3,33 (m, 2H), 1,48 - 1,45 (m, 2H), 1,35 (s, 3H), 1,32 (s, 3H) și 1,14 - 1,11 (m, 2H) ppm.

Sinteza Compusului III: N-(2,4-di-*terț*-butil-5-hidroxifenil)-4-oxo-1,4-dihidrochinolin-3-carboxamidă

Partea A: Sintează de acid 4-oxo-1,4-dihidrochinolin-3-carboxilic



Etapă 1: Ester dietilic al acidului 2-fenilaminometilen-malonic

Un amestec de anilină (25,6 g, 0,275 mol) și dietil 2-(etoximetilen)malonat (62,4 g, 0,288 mol) a fost încălzit la 140-150 °C timp de 2 ore. Amestecul a fost răcit la temperatura camerei și uscat sub presiune redusă pentru a da 2-fenilaminometilen- esterul dietilic al acidului malonic ca solid, care a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară. ¹H RMN (DMSO-*d*₆) δ 11,00 (d, 1H), 8,54 (d, J = 13,6 Hz, 1H), 7,36-7,39 (m, 2H), 7,13-7,17 (m, 3H), 4,17-4,33 (m, 4H), 1,18-1,40 (m, 6H).

Etapă 2: Ester etilic al acidului 4-hidroxichinolin-3-carboxilic

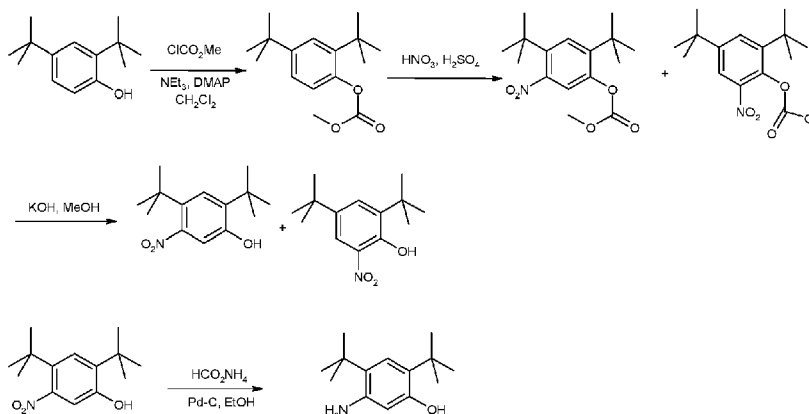
Un balon de 1 L cu trei găuri prevăzut cu un agitator mecanic a fost încărcat cu ester dietilic al acidului 2-fenilaminometilen-malonic (26,3 g, 0,100 mol), acid polifosforic (270 g) și clorură de fosforil (750 g). Amestecul a fost încălzit la 70 °C și agitat timp de 4 ore. Amestecul a fost răcit la temperatura camerei și filtrat. Reziduul a fost tratat cu soluție apoasă de Na₂CO₃, filtrat, spălat cu apă și uscat. Esterul etilic al acidului 4-hidroxichinolin-3-carboxilic a fost obținut

ca solid maro pal (15,2 g, 70%). Produsul brut a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară.

Etapă 3: Acid 4-oxo-1,4-dihidrochinolin-3-carboxilic

Esterul etilic al acidului 4-hidroxichinolin-3-carboxilic (15 g, 69 mmol) a fost suspendat în soluție de hidroxid de sodiu (2N, 150 mL) și agitat timp de 2 ore la reflux. După răcire, amestecul a fost filtrat, și filtratul a fost acidulat la pH 4 cu HCl 2N. Precipitatul rezultat a fost colectat prin filtrare, spălat cu apă și uscat sub vid pentru a da acid 4-oxo-1,4-dihidrochinolin-3-carboxilic ca solid alb pal (10,5 g, 92 %). ^1H RMN (DMSO- d_6) δ 15,34 (s, 1 H), 13,42 (s, 1 H), 8,89 (s, 1H), 8,28 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,88 (m, 1H), 7,81 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,60 (m, 1H).

Partea B: Sinteza de N-(2,4-di-*terț*-butil-5-hidroxifenil)-4-oxo-1,4-dihidrochinolin-3-carboxamidă



Etapă 1: Ester metilic ester 2,4-di-*terț*-butil-fenilic al acidului carbonic

Cloroformiat de metil (58 mL, 750 mmol) s-a adăugat în picătură la o soluție de 2,4-di-*terț*-butil-fenol (103,2 g, 500 mmol), Et_3N (139 mL, 1000 mmol) și DMAP (3,05 g, 25 mmol) în diclorometan (400 mL) răcită într-o baie de apă-gheață la 0 °C. Amestecul a fost lăsat să se încălzească la temperatura camerei în timpul agitării peste noapte, apoi a fost filtrat prin silicagel (aprox. 1 L) utilizând acetat de etil - hexani 10% (~ 4 L) ca eluent. Filtratele combinate au fost concentrate pentru a da ester metilic ester 2,4-di-*terț*-butil-fenilic al acidului carbonic ca ulei galben (132 g, quant.). ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,35 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,29 (dd, J = 8,5, 2,4 Hz, 1H), 7,06 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 3,85 (s, 3H), 1,30 (s, 9H), 1,29 (s, 9H).

Etapă 2: Ester metilic ester 2,4-di-*terț*-butil-5-nitro-fenilic al acidului carbonic și Ester metilic ester 2,4-di-*terț*-butil-6-nitro-fenilic al acidului carbonic

La un amestec sub agitare de ester metilic ester 2,4-di-*terț*-butil-fenilic al acidului carbonic (4,76 g, 180 mmol) în acid sulfuric conc. (2 mL), răcit într-o baie de apă-gheață, s-a adăugat un amestec răcit de acid sulfuric (2 mL) și acid azotic (2 mL). Adăugarea a fost făcută încet astfel încât temperatura reacției nu a depășit 50 °C. Masa de reacție a fost lăsată să se agite timp de 2 ore în timpul încălzirii la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost apoi adăugat la gheață-apă și extras în dietil eter. Stratul de eter a fost uscat (MgSO_4), concentrat și purificat prin cromatografie pe coloană (acetat de etil - hexani 0 - 10%) pentru a da un amestec de ester metilic ester 2,4-di-*terț*-butil-5-nitro-fenilic al acidului carbonic și ester metilic ester 2,4-di-*terț*-butil-6-nitro-fenilic al acidului carbonic ca solid galben pal (4,28 g), care a fost utilizat direct în etapa următoare.

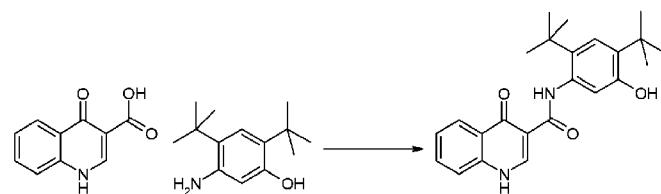
Etapă 3: 2,4-Di-*terț*-butil-5-nitro-fenol și 2,4-Di-*terț*-butil-6-nitrofenol

Amestecul de ester metilic ester 2,4-di-*terț*-butil-5-nitro-fenilic al acidului carbonic și ester metilic ester 2,4-di-*terț*-butil-6-nitro-fenilic al acidului carbonic (4,2 g, 14,0 mmol) a fost dizolvat în MeOH (65 mL) înainte de a adăuga KOH (2,0 g, 36 mmol). Amestecul a fost agitat la temperatura camerei timp de 2 ore. Amestecul de reacție a fost apoi făcut acid (pH 2-3) prin adăugare de HCl conc. și partiționat între apă și dietil eter. Stratul de eter a fost uscat (MgSO_4), concentrat și purificat prin cromatografie pe coloană (acetat de etil - hexani 0 - 5 %) pentru a furniza 2,4-di-*terț*-butil-5-nitrofenol (1,31 g, 29% în 2 etape) și 2,4-di-*terț*-butil-6-nitro-fenol. 2,4-Di-*terț*-butil-5-nitro-fenol: ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10,14 (s, 1H, OH), 7,34 (s, 1H), 6,83 (s, 1H), 1,36 (s, 9H), 1,30 (s, 9H). 2,4-Di-*terț*-butil-6-nitro-fenol: ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 11,48 (s, 1H), 7,98 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 1,47 (s, 9H), 1,34 (s, 9H).

Etapă 4: 5-Amino-2,4-di-*terț*-butil-fenol

La o soluție la reflux de 2,4-di-*terț*-butil-5-nitro-fenol (1,86 g, 7,40 mmol) și formiat de amoniu (1,86 g) în etanol (75 mL) s-a adăugat Pd-5% în greutate, pe carbon activat (900 mg). Amestecul de reacție a fost agitat la reflux timp de 2 ore, răcit la temperatura camerei și filtrat prin Celite. Celite a fost spălat cu metanol și filtratele combinate au fost concentrate pentru a da 5-amino-2,4-di-*terț*-butil-fenol ca solid gri (1,66 g, cant.). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,64 (s, 1H, OH), 6,84 (s, 1H), 6,08 (s, 1H), 4,39 (s, 2H, NH₂), 1,27 (m, 18H); timp de ret. HPLC 2,72 min, 10-99 % CH₃CN, rulare 5 min; ESI-MS 222,4 m/z [M+H]⁺.

Etapa 5: N-(5-Hidroxi-2,4-di-*terț*-butil-fenil)-4-oxo-1H-chinolin-3-carboxamidă

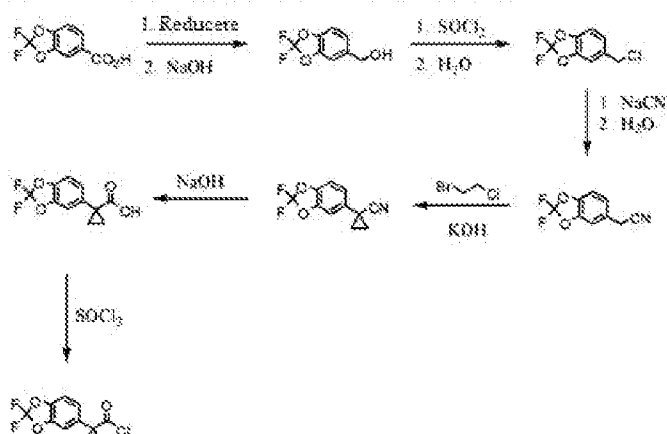


La o suspensie de acid 4-oxo-1,4-dihidrochinolin-3-carboxilic (35,5 g, 188 mmol) și HBTU (85,7 g, 226 mmol) în DMF (280 mL) s-a adăugat Et₃N (63,0 mL, 451 mmol) la temperatura ambiantă. Amestecul a devenit omogen și a fost lăsat să se agite timp de 10 min înainte de a se adăuga 5-amino-2,4-di-*terț*-butil-fenol (50,0 g, 226 mmol) în porții mici. Amestecul a fost lăsat să se agite peste noapte la temperatura ambiantă. Amestecul a devenit heterogen pe parcursul reacției. După ce tot acidul a fost consumat (analiza LC-MS, MH⁺ 190, 1,71 min), solventul a fost îndepărtat in vid. EtOH (alcool etilic) s-a adăugat la materialul solid oranj pentru a produce o suspensie. Amestecul a fost agitat pe un evaporator rotativ (temperatură baie 65 °C) timp de 15 min fără plasarea sistemului sub vid. Amestecul a fost filtrat și solidul capturat. Acest procedeu a fost efectuat în total de cinci ori. Solidul obținut după a cincea precipitare a fost plasat sub vid peste noapte pentru a furniza N-(5-hidroxi-2,4-di-*terț*-butil-fenil)-4-oxo-1H-chinolin-3-carboxamidă (38 g, 52%). Timp de ret. HPLC 3,45 min, 10-99% CH₃CN, rulare 5 min; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,88 (s, 1H), 11,83 (s, 1H), 9,20 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 8,33 (dd, J = 8,2, 1,0 Hz, 1H), 7,83-7,79 (m, 1H), 7,76 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,54-7,50 (m, 1H), 7,17 (s, 1H), 7,10 (s, 1H), 1,38 (s, 9H), 1,37 (s, 9H); ESI-MS m/z calc'd 392,21; găsit 393,3 [M+H]⁺.

Sinteza Compusului IV: Acid 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropancarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoic

Compusul IV se poate prepara prin cuplarea unui radical de clorură acidă cu un radical de amină în conformitate cu Schemele IV-A prin IV-D.

Schema IV-A. Sinteza radicalului de clorură acidă

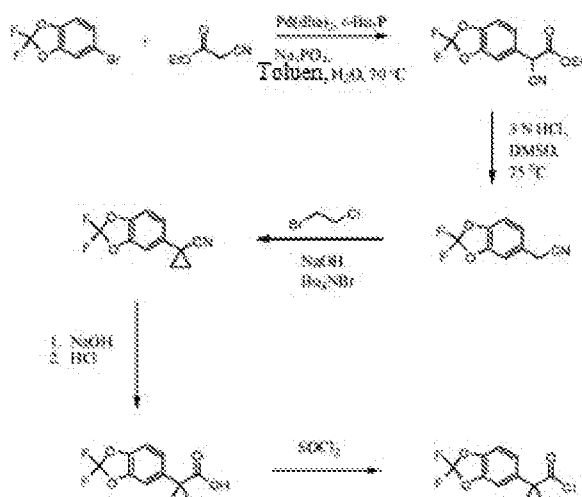


Schema IV-A ilustrează prepararea clorurii 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropancarbonil, care este utilizată în Schema IV-C pentru a face legătura amidică a Compusului IV.

Materia primă, acidul 2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-carboxilic, este disponibil comercial de la Saltigo (un afiliat al Lanxess Corporation). Reducerea radicalului de acid carboxilic

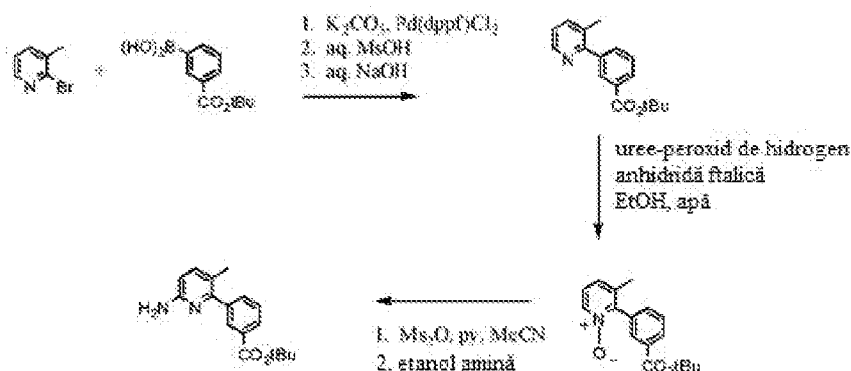
in acidul 2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-carboxilic la alcoolul primar, urmată de conversie la clorura corespunzătoare utilizând clorură de tionil (SOCl_2), furnizează 5-(clorometil)-2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol, care este convertit ulterior la 2-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)acetonitrilul utilizând cianură de sodiu. Tratarea 2-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)acetonitrilului cu bază și 1-bromo-2-cloroetan furnizează 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropancarbonitril. Radicalul nitril din 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropancarbonitril este convertit la un acid carboxilic utilizând bază pentru a da acid 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropancarboxilic, care este convertit la clorura acidă dorită utilizând clorură de tionil.

Schema 4-B. Sinteza alternativă a radicalului clorură acidă



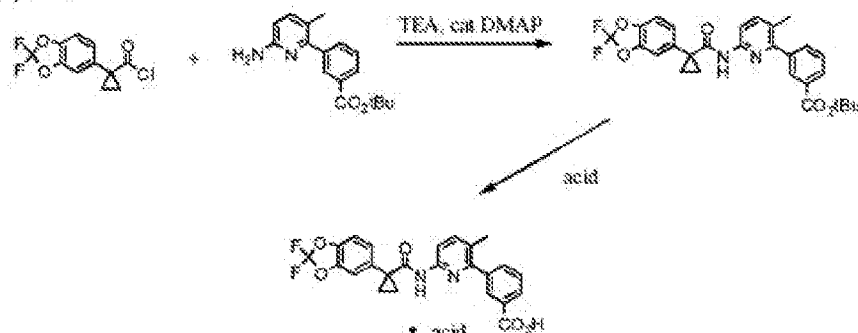
Schema IV-B ilustrează o sinteză alternativă a clorurii acide necesare. 5-bromometil-2,2-difluoro-1,3-benzodioxolul este cuplat cu cianoacetat de etil în prezența unui catalizator de paladiu pentru a forma alfa ciano esterul etilic corespunzător. Saponificarea radicalului ester la acidul carboxilic dă cianoetil Compus IV. Alchilarea cianoetil compusului cu 1-bromo-2-cloro etan în prezență de bază dă cianociclopropil Compus. Tratarea cianociclopropil compusului cu bază dă sarea carboxilat, care este convertită la acidul carboxilic prin tratare cu acid. Conversia acidului carboxilic la clorură acidă este apoi realizată utilizând un agent de clorurare cum ar fi clorură de tionil sau altele asemenea.

Schema IV-C. Sinteza radicalului amină.



Schema IV-C ilustrează prepararea 3-(6-amino-3-metilpiridin-2-il)benzoatului de *terf*-butil necesar, care este cuplat cu clorură de 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropancarbonil în Schema IV-C pentru a da Compus IV. Cuplarea catalizată de Paladiu a 2-bromo-3-metilpiridinei cu acid 3-(*terf*-butoxicarbonil)fenilboronic dă 3-(3-metilpiridin-2-il)benzoat de *terf*-butil, care este ulterior convertit la compusul dorit.

Schema IV D. Formarea unei sări cu acid a acidului 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropancarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoic

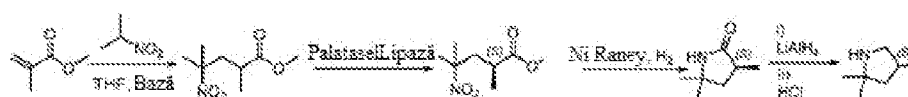


Schema IV-D ilustrează cuplarea clorurii de 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropancarbonil cu 3-(6-amino-3-metilpiridin-2-il)benzoat de *terț*-butil utilizând trietilamină și 4-dimetilaminopiridină pentru a furniza inițial esterul *terț*-butilic al Compusului IV.

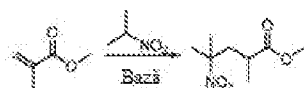
Sinteza compușilor

Sinteza Compusului 1

Partea A: Sinteza de clorhidrat de (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină



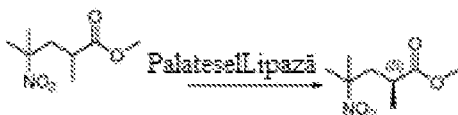
Etapa 1: 2,4-dimetil-4-nitro-pentanoat de metil



Tetrahidrofuran (THF, 4,5 L) s-a adăugat la un reactor de sticlă de 20 L și s-a agitat sub N_2 la temperatura camerei. 2-Nitropropan (1,5 kg, 16,83 mol) și 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-enă (DBU) (1,282 kg, 8,42 mol) au fost apoi încărcate în reactor, și temperatura mantalei a fost crescută la 50 °C. După ce conținuturile reactorului au fost închise la 50 °C, metacrilat de metil (1,854 kg, 18,52 mol) s-a adăugat încet în timp de 100 minute. Temperatura reacției a fost menținută la sau închisă la 50 °C timp de 21 ore. Amestecul de reacție a fost concentrat in vid apoi transferat inapoi in reactor și diluat cu metil *terț*-butil eter (MTBE) (14 L). S-a adăugat HCl 2 M (7,5 L), și acest amestec a fost agitat timp de 5 minute apoi lăsat să se decanteze. Două straturi limpezi au fost vizibile - o fază apoasă galbenă mai scăzută și o fază organică verde superioară. Stratul apos a fost îndepărtat, și stratul organic a fost agitat din nou cu HCl 2 M (3 L). După separare, spălările cu HCl au fost recombinate și agitate cu MTBE (3 L) timp de 5 minute. Stratul apos a fost îndepărtat, și toate straturile organice au fost combinate în reactor și agitate cu apă (3 L) timp de 5 minute. După separare, straturile organice au fost concentrate in vid pentru a da un ulei verde tulbure. Produsul brut a fost tratat cu $MgSO_4$ și filtrat pentru a da 2,4-dimetil-4-nitropentanoat de metil ca ulei verde limpede (3,16 kg, randament 99%).

^1H RMN (400 MHz, Cloroform-*d*) δ 3,68 (s, 3H), 2,56 - 2,35 (m, 2H), 2,11 - 2,00 (m, 1H), 1,57 (s, 3H), 1,55 (s, 3H), 1,19 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H).

Etapa 2: Sinteza de (2S)-2,4-dimetil-4-nitro-pentanoat de metil

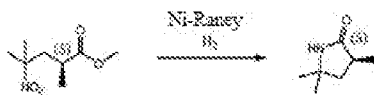


Un reactor a fost încărcat cu apă purificată (2090 L; 10 vol) și apoi fosfat de potasiu monobasic (27 kg, 198,4 moli; 13 g/L pentru șarja de apă). PH-ul conținuturilor reactorului a fost ajustat la pH 6,5 ($\pm 0,2$) cu soluție de carbonat de potasiu 20% (m/v). Reactorul a fost încărcat cu

2,4-dimetil-4-nitro-pentanoat de metil racemic (209 kg; 1104,6 moli), și Palatase 20000L lipază (13 L, 15,8 kg; 0,06 vol).

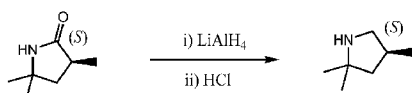
- Amestecul de reacție a fost ajustat la 32 ± 2 °C și agitat timp de 15-21 ore, și pH-ul 6,5 a fost menținut utilizând un pH stat cu adăugare automată de soluție 20% de carbonat de potasiu. Când materia primă racemică a fost convertită la ee >98% a S-enantiomerului, după cum s-a determinat prin GC chirală, încălzirea externă a fost închisă. Reactorul a fost apoi încărcat cu MTBE (35 L; 5 vol), și stratul apos a fost extras cu MTBE (de 3 ori, 400-1000L). Extractele organice combinate au fost spălate cu Na₂CO₃ apos (de 4 ori, 522 L, 18 % g/g 2,5 vol), apă (523 L; 2,5 vol), și NaCl apoasă 10% (314 L, 1,5 vol). Stratul organic a fost concentrat in vid pentru a da (2S)-2,4-dimetil-4-nitro-pentanoat de metil ca ulei galben mobil (>98% ee, 94,4 kg; 45 % randament).

Etapă 3: Sinteză de (3S)-3,5,5-trimetilpirolidin-2-onă



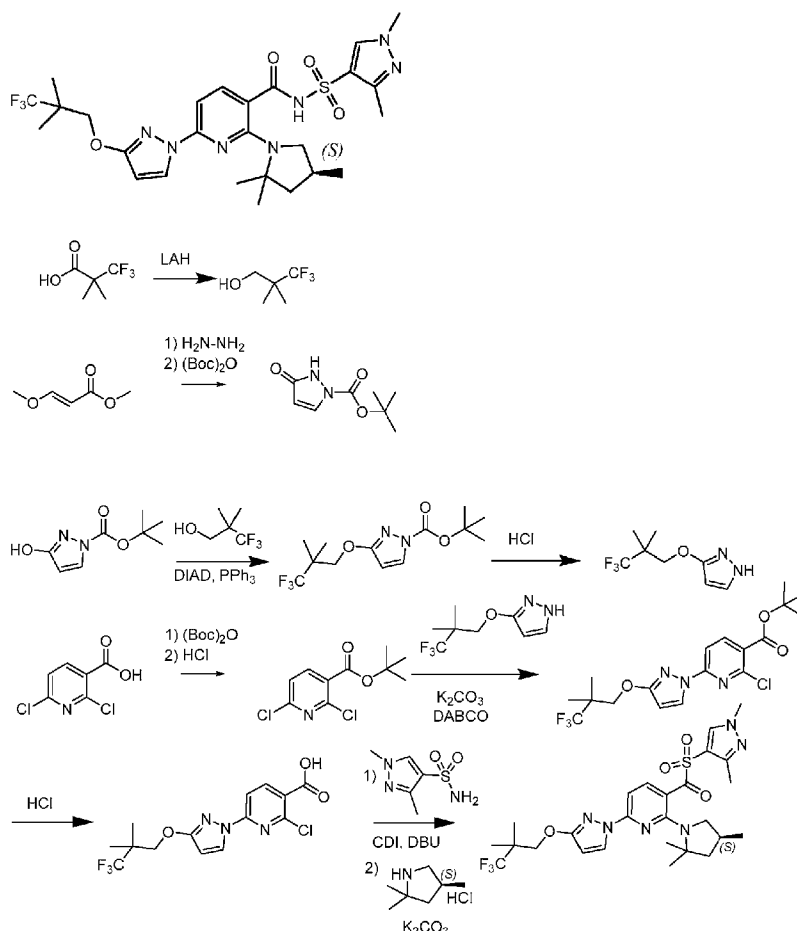
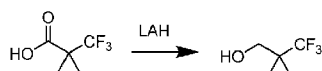
- Un reactor de 20 L a fost purjat cu N₂. Vasul a fost încărcat secvențial cu apă DI-clătit, Ni Raney® umezit (2800 grade, 250 g), (2S)-2,4-dimetil-4-nitro-pentanoat de metil (1741g, 9,2 mol), și etanol (13,9 L, 8 vol). Masa de reacție a fost agitată la 900 rpm, și reactorul a fost suflat cu H₂ și menținut la ~2,5 bari. Amestecul de reacție a fost apoi încălzit la 60 °C timp de 5 ore. Amestecul de reacție a fost răcit și filtrat pentru a îndepărta nichel Raney, și turta solidă a fost clătită cu etanol (3,5 L, 2 vol). Soluția etanolică de produs a fost combinată cu o a doua șarjă egală sortată și concentrată in vid pentru a reduce până la un volum minim de etanol (~1,5 volume). A fost adăugat heptan (2,5 L), și suspensia a fost concentrată din nou la ~1,5 volume. Aceasta s-a repetat de 3 ori; suspensia rezultată a fost răcită la 0-5 °C, filtrată sub sucțiune, și spălată cu heptan (2,5 L). Produsul a fost uscat sub vid timp de 20 minute apoi transferat pentru uscarea tăvilor și uscat într-un cuptor cu vid la 40 °C peste noapte pentru a da (3S)-3,5,5-trimetilpirolidin-2-onă ca solid cristalin alb (2,042 kg, 16,1 mol, 87 %). ¹H RMN (400 MHz, Cloroform-*d*) δ 6,39 (s, 1H), 2,62 (ddq, J = 9,9, 8,6, 7,1 Hz, 1H), 2,17 (dd, J = 12,4, 8,6 Hz, 1H), 1,56 (dd, J = 12,5, 9,9 Hz, 1H), 1,31 (s, 3H), 1,25 (s, 3H), 1,20 (d, J = 7,1 Hz, 3H).

Etapă 4: Sinteză de clorhidrat de (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină



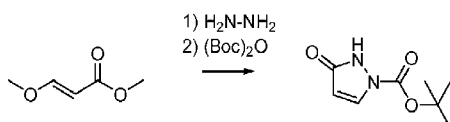
- Un reactor de 120 L căptușit cu sticlă a fost încărcat cu granule de hidruură de litium aluminiu (2,5 kg, 66 mol) și THF uscat (60 L) și încălzit la 30 °C. Suspensia rezultată a fost încărcată cu (S)-3,5,5-trimetilpirolidin-2-onă (7,0 kg, 54 mol) în THF (25 L) în 2 ore în timp ce se menține temperatura reacției la 30 până la 40 °C. După adăugare completă, temperatura reacției a fost crescută până la 60 - 63 °C și menținută peste noapte. Amestecul de reacție a fost răcit la 22 °C, apoi stins cu grijă adăugând acetat de etil (EtOAc) (1,0 L, 10 moli), urmat de un amestec de THF (3,4 L) și apă (2,5 kg, 2,0 eq), și apoi un amestec de apă (1,75 kg) cu hidroxid de sodiu apos 50 % (750 g, 2 echiv apă cu 1,4 echiv hidroxid de sodiu față de aluminiu), urmată de 7,5 L apă. După adăugarea a fost completă, amestecul de reacție a fost răcit la temperatura camerei, și solidul a fost îndepărtat prin filtrare și spălat cu THF (3 x 25 L). Filtratul și spălările au fost combinate și tratate cu 5,0 L (58 moli) de HCl apos 37% (1,05 echiv.) în timp ce se menține temperatura mai jos 30°C. Soluția rezultată a fost concentrată prin distilarea in vid a suspensiei. S-a adăugat izopropanol (8 L) și soluția a fost concentrată până aproape de sec prin distilare sub vid. S-a adăugat izopropanol (4 L), și produsul a fost suspendat prin încălzire la aproximativ 50 °C. MTBE (6 L) a fost adăugat, și suspensia a fost răcită la 2-5 °C. Produsul a fost colectat prin filtrare și clătit cu 12 L MTBE și uscat într-un cuptor cu vid (55 °C/300 torr/scurgere de N₂) pentru a da (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină•HCl ca solid alb, cristalin (6,21 kg, randament 75%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,34 (br d, 2H), 3,33 (dd, J = 11,4, 8,4 Hz, 1H), 2,75 (dd, J = 11,4, 8,6 Hz, 1H), 2,50- 2,39 (m, 1H), 1,97 (dd, J = 12,7, 7,7 Hz, 1H), 1,42 (s, 3H), 1,38 (dd, J = 12,8, 10,1 Hz, 1H), 1,31 (s, 3H), 1,05 (d, J = 6,6 Hz, 3H).

Part B: Preparare de N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 1)

**Prepararea materiilor prime:****5 3,3,3-Trifluoro-2,2-dimetil-propan-1-ol**

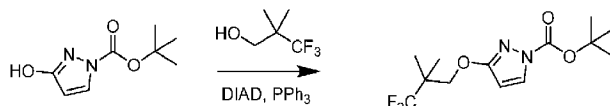
- Un balon cu fund rotund cu 3 gâturi de 1 L a fost prevăzut cu un agitator mecanic, o baie de răcire, o pâlnie de alimentare, și o sondă de temperatură J-Kem. Vasul a fost încărcat cu hidruură de litiu aluminiiu (LAH) granule (6,3 g, 0,1665 mol) sub o atmosferă de azot. Vasul a fost apoi încărcat cu tetrahidrofuran (200 mL) sub o atmosferă de azot. Amestecul a fost lăsat să se agite la temperatura camerei timp de 0,5 ore pentru a permite granulelor să se dizolve. Baia de răcire a fost apoi încărcată cu gheață zdrobită în apă și temperatura reacției a fost scăzută la 0 °C. Pâlnia de adăugare a fost încărcată cu o soluție de acid 3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propanoic (20 g, 0,1281 mol) în tetrahidrofuran (60 mL) și s-a adăugat în picătură într-o oră o soluție galben pal limpede. După ce adăugarea a fost completă amestecul a fost lăsat să se încălzească încet la temperatura camerei și agitarea a fost continuată timp de 24 de ore. Suspensia a fost răcită la 0 °C cu gheață zdrobită-apă în baia de răcire și apoi stinsă prin adăugarea în picătură, foarte lentă de apă (6,3 mL), urmată de soluție de hidroxid de sodiu (15 % în greutate; 6,3 mL) și apoi în final cu apă (18,9 mL). Temperatura reacției suspensiei albe rezultate a fost înregistrată la 5 °C. Suspensia a fost agitată la ~5 °C timp de 30 minute și apoi filtrată printr-un strat de Celite de 20 mm. Turta de filtru a fost spălată cu tetrahidrofuran (2 x 100 mL). Filtratul a fost uscat pe sulfat de sodiu (150 g) și apoi filtrat. Filtratul a fost concentrat sub presiune redusă pentru a furniza un ulei limpede incolor (15 g) conținând un amestec de produs 3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propan-1-ol în THF (73 % în greutate produs ~10,95g, și 27 % în greutate THF așa cum s-a determinat prin ¹H-RMN). Distilatul de la evaporarea rotativă a fost distilat la presiune atmosferică folosind o coloană Vigreux de 30 cm pentru a furniza 8,75 g dintr-un reziduu care conține 60% în greutate THF și 40% în greutate produs (~3,5 g). Cantitatea totală de produs estimată este 14,45 g (randament 79%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 4,99 (t, J = 5,7 Hz, 1H), 3,38 (dd, J = 5,8, 0,9 Hz, 2H), 1,04 (d, J = 0,9 Hz, 6H).

3-Oxo-2,3-dihidro-1H-pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil



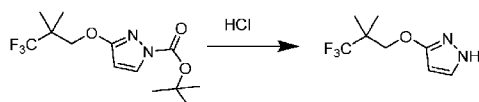
Un reactor controlat Syrris de 50L a fost pornit și s-a setat mantaua la 20 °C, agitarea la 150 rpm, condensatorul de reflux (10 °C) și purjarea azotului. S-au adăugat MeOH (2,860 L) și (E)-3-metoxiprop-2-enoat de metil (2,643 kg, 22,76 mol) și reactorul a fost etanșat. Masa de reacție a fost încălzită la o temperatură internă de 40 °C și sistemul a fost setat pentru a menține temperatura în manta la 40 °C. S-a adăugat în porții hidrat de hidrazină (1300 g de 55 %g/g, 22,31 mol) prin palnie de alimentare, în 30 min. Masa de reacție a fost încălzită la 60 °C timp de 1 oră. Amestecul de reacție a fost răcit la 20 °C și trietilamină (2,483 kg, 3,420 L, 24,54 mol) s-a adăugat în porții (exoterm), menținând temperatura reacției <30 °C. O soluție de Boc anhidridă (di-*tert*-butil dicarbonat) (4,967 kg, 5,228 L, 22,76 mol) în MeOH (2,860 L) s-a adăugat în porții menținând temperatura <45 °C. Amestecul de reacție a fost agitat la 20 °C timp de 16 h. Soluția de reacție a fost concentrată parțial pentru a îndepărta MeOH, conducând la un ulei limpede de culoare chihlimbar deschis. Uleiul rezultat a fost transferat în reactorul de 50L, agitat și s-au adăugat apă (7,150 L) și heptan (7,150 L). Adăugările au cauzat precipitarea unei cantități mici de produs. Stratul apos a fost drenat într-un recipient curat și interfața și stratul de heptan au fost filtrate pentru a separa solidul (produsul). Stratul apos a fost transferat înapoi în reactor, și solidul colectat a fost plasat din nou în reactor și amestecat cu stratul apos. La reactor s-a adăugat o pâlnie de picurare care s-a încărcat cu acid acetic (1,474 kg, 1,396 L, 24,54 mol), apoi a început adăugarea în picătură a acidului. Mantaua a fost setată la 0 °C pentru a prelua căldura degajată la stingere. După adăugare (pH=5), amestecul de reacție a fost agitat timp de 1 oră. Solidul a fost colectat prin filtrare și spălat cu apă (7,150 L), și spălat a doua oară cu apă (3,575 L) și uscat. Solidul cristalin a fost scos din filtru într-un evaporator rotativ cu bec de 20L și s-a adăugat heptan (7,150 L). Amestecul a fost suspendat la 45 °C timp de 30 minute, și apoi s-au distilat 1-2 volume de solvent. Suspensia din balonul evaporatorului rotativ a fost filtrată și solidele spălate cu heptan (3,575 L) și extrase uscate. Solidul a fost uscat mai departe *in vid* (50 °C, 15 mbar) pentru a da 5-oxo-1H-pirazol-2-carboxilat de *tert*-butil (2921 g, 71%) ca solid cristalin grosier. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,95 (s, 1H), 7,98 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 5,90 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 1,54 (s, 9H).

30 Etapa A: 3-(3,3,3-Trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil



Un amestec de 3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propan-1-ol (10 g, 70,36 mmol) și 3-hidroxipirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (12,96 g, 70,36 mmol) în toluen (130 mL) a fost tratat cu trifenil fosfină (20,30 g, 77,40 mmol) urmată de N-izopropoxycarboniliminocarbamat de izopropil (14,99 mL, 77,40 mmol) și amestecul a fost agitat la 110 °C timp de 16 ore. Soluția galbenă a fost concentrată sub presiune redusă, diluată cu heptan (100mL) și precipitatul trifenilfosfin oxid a fost îndepărtat prin filtrare și spălat cu heptan/toluen 4:1 (100mL). Filtratul galben a fost evaporat și reziduul purificat prin cromatografie pe silicagel cu un gradient liniar de acetat de etil în hexan (0-40%) pentru a da 3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (12,3 g, 57%) ca un solid alburiu. ESI-MS *m/z* calc. 308,13477, găsit 309,0 (M+1)⁺; Timp de retenție: 1,84 minute. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,10 (d, *J* = 3,0 Hz, 1H), 6,15 (d, *J* = 3,0 Hz, 1H), 4,18 (s, 2H), 1,55 (s, 9H), 1,21 (s, 6H).

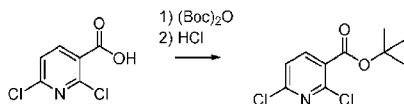
45 Etapa B: 3-(3,3,3-Trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)-1H-pirazol



3-(3,3,3-Trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (13,5 g, 43,79 mmol) a fost tratat cu acid clorhidric 4 M în dioxan (54,75 mL, 219,0 mmol) și amestecul a fost agitat la 45 °C timp de 1 oră. Amestecul de reacție a fost evaporat la sec și reziduul a fost extras cu NaOH apos 1 M (100ml) și metil *tert*-butil eter (100ml), spălat cu saramură (50ml) și extras cu metil *tert*-butil eter (50ml). Fazele organice combinate au fost uscate, filtrate și evaporate pentru a

da 3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)-1H-pirazol (9,0 g, 96%) ca un solid ceros alburui. ESI-MS m/z calc. 208,08235, găsit 209,0 (M+1)⁺; Timp de retenție: 1,22 minute. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,91 (s, 1H), 7,52 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 5,69 (t, J = 2,3 Hz, 1H), 4,06 (s, 2H), 1,19 (s, 6H).

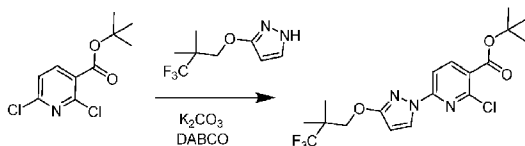
5 **Etapă C: 2,6-Dicloropiridin-3-carboxilat de *terț*-butil**



10 O soluție de acid 2,6-dicloropiridin-3-carboxilic (10 g, 52,08 mmol) în THF (210 mL) a fost tratată succesiv cu di-*terț*-butil dicarbonat (17 g, 77,89 mmol) și 4-(dimetilamino)piridină (3,2 g, 26,19 mmol) și lăsată să se agite peste noapte la temperatura camerei. La acest punct, s-a adăugat HCl 1N (400 mL) și amestecul a fost agitat viguros timp de aproximativ 10 minute. Produsul a fost extras cu acetat de etil (2x300mL) și straturile organice combinate au fost spălate

15 cu apă (300 mL) și saramură (150 mL) și uscate pe sulfat de sodiu și concentrate sub presiune redusă pentru a da 12,94 g (randament 96%) de 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de *terț*-butil ca ulei incolor. ESI-MS m/z calc. 247,01668, găsit 248,1 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,27 minute. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) ppm 1,60 (s, 9H), 7,30 (d, J=7,9 Hz, 1H), 8,05 (d, J=8,2 Hz, 1H).

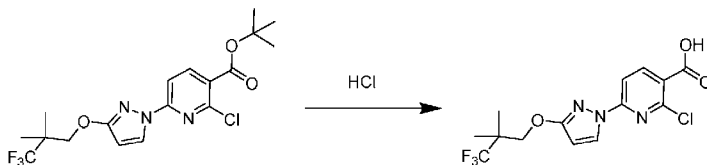
Etapă D: 2-Cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *terț*-butil



25 La o soluție de 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de *terț*-butil (10,4 g, 41,9 mmol) și 3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)-1H-pirazol (9,0 g, 41,93 mmol) în DMF (110 mL) s-au adăugat carbonat de potasiu (7,53 g, 54,5 mmol) și 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octan (706 mg, 6,29 mmol) și amestecul a fost agitat la temperatura camerei timp de 16 ore. Suspensia cremă a fost răcită într-o baie de apă rece și s-a adăugat încet apă rece (130 mL). Suspensia groasă a fost agitată la temperatura camerei timp de 1 oră, filtrată și spălată cu destulă apă pentru a da 2-cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *terț*-butil (17,6 g, 99%) ca

30 un solid alburui. ESI-MS m/z calc. 419,12234, găsit 420,0 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,36 minute. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,44 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 8,31 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,76 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,26 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 4,27 (s, 2H), 1,57 (s, 9H), 1,24 (s, 6H).

Etapă E: Acid 2-cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic

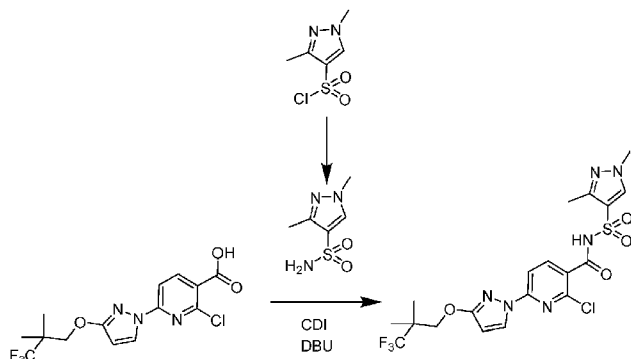


35 2-Cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *terț*-butil (17,6 g, 40,25 mmol) a fost suspendat în izopropanol (85 mL) tratat cu acid clorhidric (34 mL de 6 M, 201 mmol) și încălzit la reflux timp de 3 ore (a trecut aproape complet în soluție la reflux și a început să precipitate din nou). Suspensia a fost diluată cu apă (51 mL) la reflux și lăsată să se răcească la temperatura camerei sub agitare timp de 2,5 h. Solidul a fost colectat prin filtrare, spălat cu izopropanol/apă 1:1 (50mL), cu destul de multă apă și uscat într-un dulap de

40 uscare sub vid la 45-50 ° C sub o curgere slabă de azot peste noapte pentru a da acid 2-cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (13,7 g, 91%) ca un solid alburui. ESI-MS m/z calc. 363,05975, găsit 364,0 (M+1)⁺; Timp de retenție: 1,79 minute. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,61 (s, 1H), 8,44 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 8,39 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,77 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,25 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 4,28 (s, 2H), 1,24 (s, 6H).

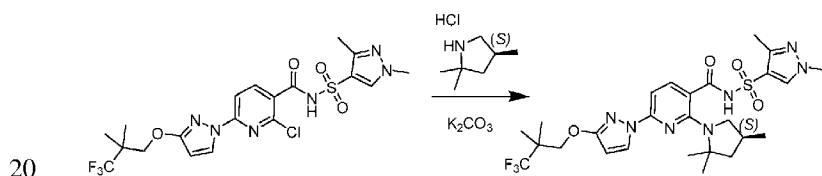
Etapă F: 2-Cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il] piridin-3-carboxamidă

50



Acid 2-cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (100 mg, 0,2667 mmol) și CDI (512 mg, 3,158 mmol) au fost combinate în THF (582,0 μ L) și amestecul a fost agitat la temperatura camerei. Între timp, clorură de 1,3-dimetilpirazol-4-sulfonil (62 mg, 0,3185 mmol) a fost combinată cu amoniac (în metanol) într-o fiolă separată, formand instantaneu un solid alb. După agitare timp de încă 20 min, volatilele au fost îndepărtate prin evaporare, și 1 mL de diclorometan s-a adăugat la reziduu solid, și a fost de asemenea evaporat. Apoi s-a adăugat DBU (100 μ L, 0,6687 mmol) și amestecul s-a agitat la 60 °C timp de 5 minute, urmat de adăugare de THF (1 mL) care a fost evaporat ulterior. Conținutul flaconului care conține acidul carboxilic activat cu CDI în THF a fost apoi adăugat în flaconul care conține noua sulfonamidă formată și DBU, și amestecul de reacție a fost agitat timp de 4 ore la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost diluat cu 10 mL de acetat de etil, și spălat cu 10 mL soluție de acid citric (1 M). Stratul apos a fost extras cu acetat de etil (2x 10 mL) și organicele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și concentrate pentru a da produsul ca solid alb (137 mg, 99%) care a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară. ESI-MS m/z calc. 520,09076, găsit 521,1 ($M+1$)⁺; Timp de retenție: 0,68 minute.

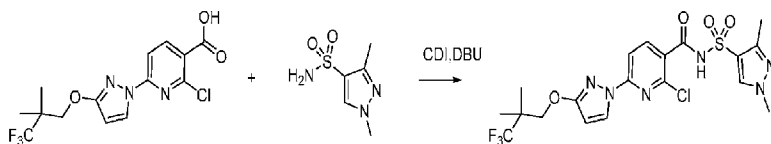
Etapă G: *N*-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă



2-Cloro-*N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (137 mg, 0,2630 mmol), (4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidină (Sare clorhidrat) (118 mg, 0,7884 mmol), și carbonat de potasiu (219 mg, 1,585 mmol) au fost combinate în DMSO (685,0 μ L) și amestecul a fost încălzit la 130 °C timp de 16 ore. Masa de reacție a fost răcită la temperatura camerei, și s-a adăugat 1 mL de apă. După agitare timp de 15 minute, conținutul flaconului au fost lăsat să se decanteze, și porțiunea lichidă a fost îndepărtată cu pipeta și solidele rămase au fost dizolvate cu 20 mL de acetat de etil și spălate cu acid citric 1 M (15 mL). Straturile au fost separate și stratul apos a fost extras suplimentar de două ori cu 15 mL de acetat de etil. Organicele au fost combinate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Solidul rezultat a fost purificat suplimentar prin cromatografie pe silicagel eluand cu un gradient de metanol în diclorometan (0-10%) pentru a da *N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (72 mg, 41%) ca solid alb. ESI-MS m/z calc. 597,2345, găsit 598,3 ($M+1$)⁺; Timp de retenție: 2,1 minute. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 12,36 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 8,22 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,74 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,17 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 4,23 (s, 2H), 3,81 (s, 3H), 2,56 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 2,41 (t, J = 8,7 Hz, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,18 (dd, J = 12,4, 6,1 Hz, 1H), 1,87 (dd, J = 11,7, 5,5 Hz, 1H), 1,55 (d, J = 11,2 Hz, 6H), 1,42 (t, J = 12,0 Hz, 1H), 1,23 (s, 6H), 0,81 (d, J = 6,2 Hz, 3H).

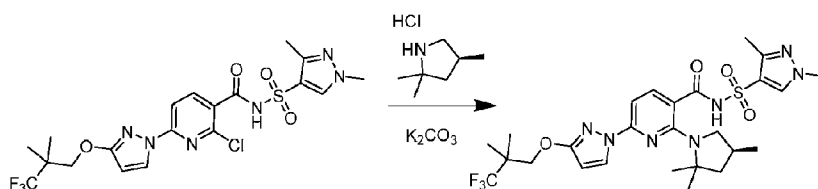
Etaple alternative F și G:

Etapă alternativă F: 2-Cloro-*N*-(1,3-dimetil-1*H*-pirazol-4-il)sulfonil-6-(3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1*H*-pirazol-1-il)nicotinamidă



- La o suspensie de acid 2-cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (20,0 g, 53,89 mmol) în THF (78,40 mL) s-a adăugat în porții carbonildiimidazol solid (aproximativ 10,49 g, 64,67 mmol) și soluția rezultată a fost agitată la temperatura camerei (a fost observată exotermicitate slabă de la 18-21 °C). După 1 h, s-a adăugat 1,3-dimetilpirazol-4-sulfonamidă solidă (aproximativ 11,33 g, 64,67 mmol), urmată de DBU (aproximativ 9,845 g, 9,671 mL, 64,67 mmol) în două porții egale în timp de 1 min (exotermă de la 19 până la 35 °C). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 16 h. Amestecul de reacție a fost diluat cu acetat de etil (118 mL) și apoi HCl (aproximativ 107,8 mL de 2 M, 215,6 mmol). Fazele au fost separate și faza apoasă a fost extrasă cu acetat de etil (78 mL). Organicele combinate au fost spălate cu apă (39,2 mL), apoi saramură (40 mL), uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Spuma rezultată a fost cristalizată dintr-un amestec 1:1 izopropanol:heptan (80 mL) pentru a da 2-cloro-N-((1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinamidă (26,1 g, 93%) ca solid alb. ESI-MS *m/z* calc. 520,0, găsit 520,9 (M+1)⁺; Timp de retenție: 1,83 minute.

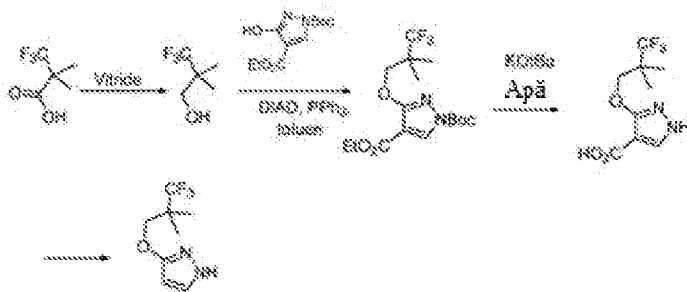
Alternative Etapa G: N-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă



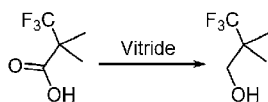
- 2-Chloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (20,0 g, 38,39 mmol), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (Sare clorhidrat) (aproximativ 14,36 g, 95,98 mmol), și K₂CO₃ (aproximativ 26,54 g, 192,0 mmol) au fost combinate în DMSO (80,00 mL) și 1,2-dietoxietan (20,00 mL) într-un balon de 500 mL cu condensator de reflux. Amestecul de reacție a fost încălzit la 120 °C timp de 16 h apoi răcit la temperatura camerei. Masa de reacție a fost diluată cu DCM (200,0 mL) și HCl (aproximativ 172,8 mL de 2 M, 345,5 mmol); pH fază apoasă ~1. Fazele au fost separate, și faza apoasă a fost extrasă cu DCM (100,0 mL). Fazele organice au fost combinate, spălate cu apă (100,0 mL) (3 x), și uscate (Na₂SO₄) pentru a da o soluție de culoarea chihlimbarului. Soluția a fost filtrată printr-un pat de silicagel ambalat în DCM (80 g; 4 g/g) și spălată cu EtOAc/DCM 20% (5 x 200 mL). Filtratele/spălările combinate au fost concentrate pentru a da 22,2 g de pulbere albicioasă. Pulberea a fost suspendată în MTBE (140 mL) timp de 30 min. Solidul a fost colectat prin filtrare (hârtie/sticlă sinterizată) pentru a da 24 g după uscare la aer. Solidul a fost transferat la un vas de uscare și uscat la vid (40 °C/200 torr/curgere slabă de N₂) peste noapte pentru a da 20,70 g (90%) de pulbere albă. ESI-MS *m/z* calc. 597,2345, găsit 598,0 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,18 minute.

- ¹H RMN (400 MHz, Cloroform-d) δ 13,85 (s, 1H), 8,30 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 8,23 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 8,08 (s, 1H), 7,55 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 5,98 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 4,24 (s, 2H), 3,86 (s, 3H), 3,44 (dd, J = 10,3, 8,4 Hz, 1H), 3,09 (dd, J = 10,3, 7,8 Hz, 1H), 2,67 - 2,52 (m, 1H), 2,47 (s, 3H), 2,12 (dd, J = 12,3, 7,8 Hz, 1H), 1,70 (dd, J = 12,4, 9,6 Hz, 1H), 1,37 (s, 3H), 1,33 (s, 3H), 1,27 (s, 6H), 1,20 (d, 3H).

- Sinteză alternativă de 3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)-1H-pirazol**

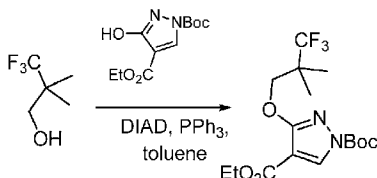


Etapa 1: Preparare de 3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropan-1-ol



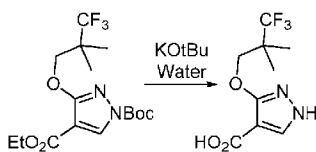
Un reactor a fost încărcată cu toluen (300 mL) și acid 3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropanoic (30 g, 192,2 mmol), etanșat, purjat sub azot. Masa de reacție a fost setat pentru a controla temperatura internă la 40 °C. O soluție de Vitride (65% în toluen. aproximativ 119,6 g de 65 %g/g, 115,4 mL de 65 %g/g, 384,4 mmol) a fost setat pentru adăugare prin seringă, și adăugarea a fost începută la 40 °C, cu temperatura de adăugare țintă între 40 și 50 °C. Masa de reacție a fost agitată la 40 °C timp de 90 min. Masa de reacție a fost răcită la 10 °C apoi Vitride rămasă a fost stinsă prin adăugare lentă de apă (6 mL). S-a adăugat în porții o soluție de NaOH aq 15 % (30 mL), și solidele au precipitat la jumătatea perioadei prin adăugarea bazei. S-a adăugat apă (60,00 mL). Amestecul a fost încălzit la 30 °C și menținut cel puțin 15 minute. Amestecul a fost apoi răcit la 20 °C. Stratul apos a fost îndepărtat. Stratul organic a fost spălat cu apă (60 mL x 3), și apoi spălat cu saramură (60 mL). Stratul organic spălat a fost uscat sub Na₂SO₄, urmat de MgSO₄. Amestecul a fost filtrat prin Celite, și turta spălată cu toluen (60,00 mL) și uscată. Produsul 3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propan-1-ol (22,5 g, 82%) a fost obținut ca soluție incoloră limpede.

Etapă 2: Preparare de 3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-1,4-dicarboxilat de 1-(terț-butil) 4-etil



Un reactor a fost încărcat cu 3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropan-1-ol (17,48 g, 123,0 mmol) soluție în toluen (250g), 3-hidroxi-1H-pirazol-1,4-dicarboxilat de 1-(terț-butil) 4-etil (30,0 g, 117,1 mmol), și PPh₃ (35,33 g, 134,7 mmol). Masa de reacție a fost încălzită la 40 °C. DIAD (26,09 mL, 134,7 mmol) a fost cântărită și plasată într-o seringă și adăugată în timp de 10 minute cu menținerea unei temperaturi interne care variază între 40 și 50 °C. Masa de reacție a fost apoi încălzită la 100 °C în 30 minute. După menținerea la 100 °C timp de 30 minute, reacția a fost completă, și amestecul a fost răcit la 70 °C în timp de 15 minute. S-a adăugat heptan (180,0 mL), și mantaua a fost răcită la 15 °C într-o oră. (TPPO a început cristalizarea la ~35 °C). Amestecul agitat la 15 °C a fost filtrat (rapid), turta a fost spălată cu o soluție pre-amestecată de toluen (60 mL) și heptan (60 mL) și apoi îndepărtată uscată. Soluția limpede a fost concentrată la un solid ceros (45 °C, vid, evaporator rotativ). Dar 3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-1,4-dicarboxilat de 1-(terț-butil) 4-etil (53,49g) a fost obținut ca solid ceros, (~120% de masă recuperată teoretic).

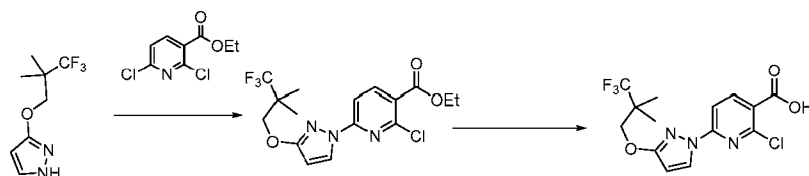
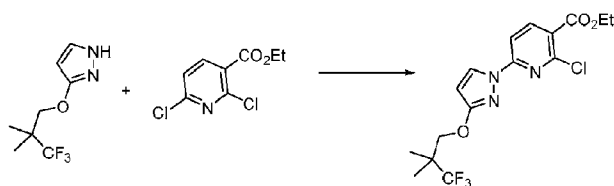
Etapă 3: Preparare de acid 3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-4-carboxilic



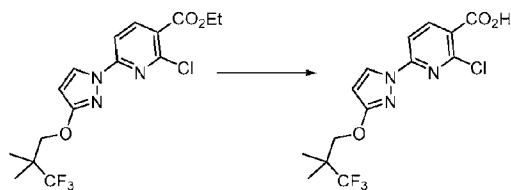
O soluție de 3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-1,4-dicarboxilat de 1-(terț-butil) 4-etil (50,0 g, 131 mmol) în 2-metiltetrahidrofuran (500 mL) a fost preparată într-un reactor și agitată la 40 °C. Porții de KOt-Bu (80,85 g, 720,5 mmol) au fost apoi adăugate în 30 minute. Adăugarea a fost exotermă. După 20 53,49g UPLC-MS a prezentat îndepărtarea completă a grupării Boc, astfel s-a adăugat apă (3,53 g, 3,53 mL, 196 mmol) adăugată în picătură prin seringă în timp de 20 min pentru a se menține temperatura reacției între 40-50 °C. Amestecul a fost apoi agitat timp de 17 ore pentru a finaliza reacția. Amestecul a fost apoi răcit la 20 °C și s-a adăugat apă (400 mL). Agitarea a fost oprită și straturile au fost separate. Produsul dorit în stratul apos a fost întors la reactor și stratul organic a fost eliminat. Stratul apos a fost spălat cu 2-Me-THF (200 mL). S-a adăugat izopropanol (50 mL) urmat de adăugarea în picătură a HCl apos (131 mL de 6,0 M, 786,0 mmol) pentru a ajusta pH-ul la <3 în timp ce temperatura se menține mai jos 30 °C. Solidul rezultat a fost apoi izolat prin filtrare și turta de filtru spălată cu apă (100 mL) apoi îndepărtată uscată până când s-a obținut o turtă lipicioasă. Solidele au fost apoi uscate sub vid la 55 °C pentru a da 3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-4-acid carboxilic (23,25 g) ca un albicios fine solid.

Etapa 4: Preparare de 3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol

Acid 3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-4-carboxilic (1,0 echiv) s-a adăugat într-un reactor, urmat de DMF (6,0 vol, 2,6 wt echiv). Amestecul a fost agitat la 18 - 22 °C. DBU (0,2 echiv.) a fost încărcat la amestecul de reacție cu o viteză de aproximativ 45 mL/min. Temperatura reacției a fost apoi crescută la 98 - 102 °C în timp de 45 minute. Amestecul de reacție a fost agitat la 98 - 102 °C nu mai puțin de 10 h. Amestecul de reacție a fost apoi răcit la -2 °C până la 2 °C în timp de aproximativ 1 oră și a fost utilizat fără izolare pentru a face 2-cloro-6-(3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinat de etil

Procedeu alternativ pentru prepararea acidului 2-cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic**Etapa 1. 2-Cloro-6-(3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinat de etil**

O soluție de 2,6-dicloronicotinat de etil (256 g, 1,16 mol) și 3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol (242 g, 1,16 mol) în DMF (1,53 L) a fost tratat cu carbonat de potasiu (209 g, 1,51 mol) și DABCO (19,6 g, 174 mmol). Suspensia rezultată a fost lăsată sub agitare să se exotermizeze de la 14 la 25 °C și apoi a fost menținută la 20 - 25 °C cu răcire externă timp de 3 zile. Suspensia a fost răcită la mai jos de 10 °C când s-a adăugat apă (2,0 L) într-un a subțire în timp ce temperatura se menține sub 25 °C. După ce adăugarea a fost completă, suspensia a fost agitată timp de încă 1 h. Solidul a fost colectat prin filtrare (sticlă sinterizată/polipad) și turta de pe filtru a fost spălată cu apă (2 x 500-mL) și uscată cu sucțiune timp de 2 ore pentru a da 2-cloro-6-(3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinat de etil umezit cu apă (512 g; randament 113%) ca pulbere albă care a fost utilizată fără etape suplimentare în reacția ulterioară.

Etapa 2. Acid 2-cloro-6-(3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1h-pirazol-1-il)nicotinic

2-Cloro-6-(3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinat de etil umezit cu apă (455 g, 1,16 mol; randament presupus a fi 100% de la etapa anterioară) în EtOH (1,14 L) și THF (455 mL) a fost agitat la temperatura ambiantă (17 °C) când s-a adăugat NaOH 1 M (1,16 L, 1,16 mol). Amestecul de reacție a fost exotermizat la 30 °C și încălzit în continuare la 40 °C timp de 2 ore. Soluția a fost stinsă cu HCl 1 M (1,39 L, 1,39 mol) ceea ce a dus la o precipitare imediată care a devenit mai groasă as acidul s-a adăugat. The creamy suspensie a fost lăsată să se răcească la temperatura camerei și a fost agitată peste noapte. Solidul a fost colectat prin filtrare (sticlă sinterizată/poli pad). Turta de filtru a fost spălată cu apă (2 x 500-mL). Turta de filtru a fost uscată prin sucțiune timp de 1 oră dar au rămas umedă. Solidul umed a fost transferat într-un balon Buchi de 10 L pentru uscare suplimentară (50 °C/20 torr), dar aceasta nu a fost eficientă. Efortul suplimentar de uscare prin îndepărtare cu i-PrOH a fost de asemenea ineficient. Uscarea cu succes a fost realizată după ce solidul umed a fost reumplut cu i-PrOAc (3 L), suspensia a fost încălzită la 60 °C (omogenizată), și re-concentrată la sec (50 °C/20 torr) pentru a da acid 2-cloro-6-(3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1h-pirazol-1-il)nicotinic uscat (408 g; randament 97% pentru două etape) ca pulbere albă fină. Produsul a fost uscat mai departe într-un cuptor cu vid (50 °C/10 torr/curgere de N₂) timp de 2 ore dar s-a observat o pierdere secunară în greutate. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,64 (s, 1H), 8,49 - 8,36 (m, 2H), 7,77 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,26 (d, J = 2,8

Hz, 1H), 4,28 (s, 2H), 1,24 (s, 6H). 19F RMN (376 MHz, DMSO-d₆) δ -75,2. Analiza KF: 0,04% apă.

2. Prepararea formei A a Compusului 1

Forma cristalină A a compusului 1 a fost obținută ca rezultat al următoarei sinteze. 2-Cloro-*N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă combinată (108 g, 207,3 mmol), (4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (77,55 g, 518,2 mmol), au fost combinate cu K₂CO₃ (143,2 g, 1,036 mol) în DMSO (432,0 mL) și 1,2-dietoxietan (108,0 mL) într-un balion RB de 1-L cu condensator de reflux. Suspensia rezultată a fost încălzită la 120°C și a fost agitată la temperatură peste noapte. Apoi masa de reacție a fost diluată cu DCM (1,080 L) și s-a adăugat încet HCl (933,0 mL de 2 M, 1,866 mol). Fazele lichide au fost separate, și faza apoasă a fost extrasă cu DCM (540,0 mL). Fazele organice au fost combinate, spălate cu apă (540,0 mL) (3 x), apoi uscate cu (Na₂SO₄) pentru a da o soluție de culoarea chihlimbarului. S-a adăugat silicagel (25 g) și apoi agentul de uscare/silicagel a fost separat prin filtrare. Stratul filtrant a fost spălat cu DCM (3 x 50-mL). Fazele organice au fost combinate și concentrate (40 °C/40 torr) pentru a da *N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă brută (198,6 g, 160% teoretic) ca un solid alburui. Solidul a fost diluat cu MTBE (750 mL), încălzit la 60 °C (temperatură externă), și amestecat până la o suspensie omogenă. Suspensia a fost răcită la 30 °C cu agitare și solidul a fost colectat prin filtrare, uscat la aer, și uscat la vid pentru a da Compusul 1 (111,1 g; 90 %) ca pulbere albă, fină.

Forma cristalină A a Compusului 1 a fost de asemenea obținută prin procedeul următor. O suspensie de Compus 1 (150,0 g, 228,1 mmol) în iPrOH (480 mL) și apă (120 mL) a fost încălzit la 82 °C pentru a obține o soluție. Soluția a fost răcită cu un controlor J-Kem la o viteză de răcire de 10 °C/h. După ce temperatura de 74 °C a fost atinsă, soluția a fost însămânțată cu o probă din Compusul 1 în formă cristalină A. Cristalizarea a avut loc imediat. Suspensia a fost răcită la 20 °C. Solidul a fost colectat prin filtrare, spălat cu i-PrOH (2 x 75 mL), uscat la aer cu sucțiune, și uscat la vid (55 °C/300 torr/curent de N₂) pentru a da Compusul 1, Forma A (103,3 g) ca pulbere albă. Proba a fost răcită la ~5 °C, lăsată să se agită timp de 1 oră, și apoi solidul a fost colectat prin filtrare (sticlă sinterizată/hârtie). Turta de filtru a fost spălată cu i-PrOH (75 mL) (2 x), uscată la aer cu sucțiune, uscată la aer într-un vas de uscare (120,6 g aproape uscată), uscată la vid (55 °C/300 torr/curent de N₂) timp de 4 ore, și apoi la RT peste noapte. Uscarea peste noapte a dat 118,3 g (randament 87%) de pulbere albă.

Prepararea formei cristaline M compusului 1 (solvat cu metanol al Compusului 1)

Compusul 1 (formă neutră de acid liber) (800 mg) s-a adăugat la 9,2 g metanol și s-a format o soluție limpede. S-a adăugat încă 701,2 mg de Compus 1, și s-a format o suspensie. Temperatura a fost crescută la 45°C, punct la care s-a format o soluție limpede. Soluția a fost răcită încet, și solidele au precipitat.

Datele XRPD ale formei cristaline M a Compusului 1 sunt rezumate mai jos. Difractograma razelor X pe pulbere a formei cristaline M de Compus 1 este prezentată în FIG. 13.

Table 1. Date XRPD pentru Forma cristalină M a Compusului 1

Pos. [°2 θ]	Spațieri D
6.99	12.64
11.61	7.60
13.08	6.76
13.66	6.48
15.24	5.81
15.91	5.56
16.44	5.39
17.82	4.97
19.25	4.61

Prepararea formei cristaline E compusului 1 (solvat al Compusului 1 cu etanol)

Compusul 1 (forma neutră de acid liber) (800 mg) s-a adăugat la 9,2 g etanol și s-a încălzit la 80°C. S-a format o soluție limpede. Soluția a fost răcită încet, și solide au precipitat.

Datele XRPD ale formei cristaline E a Compusului 1 sunt rezumate mai jos. Difractograma razelor X pe pulbere a formei cristaline E a Compusului 1 este prezentată în FIG. 14.

Tabel. Date XPRD pentru Forma cristalină E a Compusului 1

Pos. [°2Th.]	Spațieri D
7.03	12.56
11.16	7.92

12.79	6.91
13.21	6.70
15.08	5.87
16.12	5.49
14.08	6.28
17.79	4.98
18.92	4.69

Prepararea forme cristaline P2 a Compusului 1 (solvat al Compusului 1 cu izopropanol)

- 5 O soluție 200 mg/mL a Compusului 1 în 2-propanol a fost încălzită la 75°C, și toate solidele s-au dizolvat. Soluția a fost răcită la 50°C, și a avut loc precipitarea. Amestecul a fost menținut la 50°C timp de câteva ore, apoi răcit la temperatura camerei și maturat timp de câteva ore.

- 10 Datele XRPD ale forme cristaline P2 compusului 1 sunt rezumate mai jos. Difractograma razelor X pe pulbere a forme cristaline P2 a Compusului 1 este prezentată în FIG. 17.

Tabel. Date XRPD ale Formei cristaline P2 a Compusului 1

Poz. [°2Th.]	Spațieri D
10.15	8.71
10.86	8.14
12.55	7.05
12.88	6.87
15.01	5.90
15.87	5.58
16.22	5.46
16.52	5.36
17.63	5.03

Prepararea diferiților solvați ai Compusului 1

- 15 Diferiți solvați ai Compusului 1 au fost preparați prin agitarea Compusului 1 amorf în solvenți de uscare relevanți așa cum se arată în Tabelul 8 următor, timp de trei săptămâni la temperatura camerei pentru solvați cu sulfolan, acid propionic, MTBE, acid izobutiric, anizol, metilbutil cetonă, acid acetic și xilen, sau la 40 °C pentru solvați cu toluen. Formele solide observate după uscarea în vid a solvaților rezultați, în vid la temperatura camerei, sunt de asemenea rezumate în Tabel. Așa cum s-a utilizat în acest document, „Formă cristalină PA” se referă la forma cristalină a Compusului 1 preparată din acid propionic așa cum s-a discutat aici,
- 20 „Formă cristalină AN” se referă la forma cristalină a Compusului 1 preparat din anisol așa cum s-a discutat aici” „Formă cristalină MK” se referă la forma cristalină a Compusului 1 preparată din metilbutil cetonă așa cum s-a discutat aici, și „Formă cristalină AA1” se referă la o formă cristalină a Compusului 1 preparată din acid acetic așa cum s-a discutat aici.

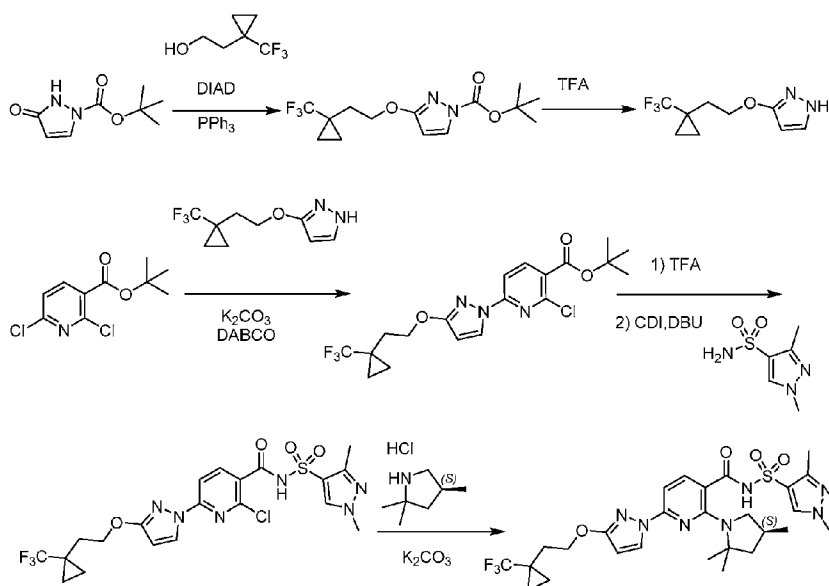
Tabelul 8:

Solvent	Concentrație (mg/mL)	Formă după desolvatare
Toluen	74	Formă A
Sulfolan	249	Formă A

Solvent	Concentrație (mg/mL)	Formă după desolvatare
Acid propionic	420	Formă A
MTBE	123	Formă A
Acid izobutiric	213	Formă A
Anizol	194	Nedeterminată
Metilbutil cetonă	465	Nedeterminată
Acid acetic	267	Formă A
Xilen	126	Amorfă în mare parte

Sinteză de *N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compus 15)

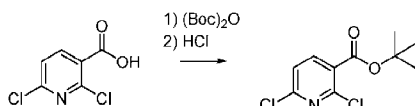
5



Sinteza materiilor prime:

Sinteză de 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de *terț*-butil

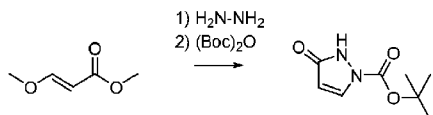
10



O soluție de acid 2,6-dicloropiridin-3-carboxilic (10 g, 52,08 mmol) în THF (210 mL) a fost tratată succesiv cu di-*terț*-butil dicarbonat (17 g, 77,89 mmol) și 4-(dimetilamino)piridină (3,2 g, 26,19 mmol) și agitată peste noapte la temperatura camerei. La acest punct, s-a adăugat HCl 1N (400 mL), și amestecul a fost agitat viguros timp de aproximativ 10 minute. Produsul a fost extras cu acetat de etil (2x300 mL), și straturile organice combinate au fost spălate cu apă (300 mL) și saramură (150 mL) și uscate pe sulfat de sodiu și concentrate sub presiune redusă pentru a da 12,94 g (randament 96%) de 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de *terț*-butil ca ulei incolor. ESI-MS *m/z* calc. 247,02, găsit 248,1 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 2,27 minute. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) ppm 1,60 (s, 9H), 7,30 (d, *J*=7,9 Hz, 1H), 8,05 (d, *J*=8,2 Hz, 1H).

20

Sinteză de 3-oxo-2,3-dihidro-1*H*-pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil



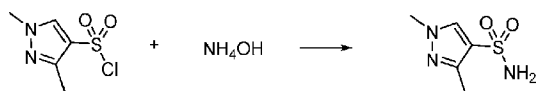
25

Un reactor de 50 L a fost pornit, și mantaua a fost setată la 20 °C, cu agitare la 150 rpm, condensator de reflux (10 °C) și purjare de azot. S-au adăugat MeOH (2,860 L) și (*E*)-3-metoxiprop-2-enoat de metil (2,643 kg, 22,76 mol), și reactorul a fost etanșat. Masa de reacție a fost încălzită până la o temperatură internă de 40 °C, și sistemul a fost setat pentru a menține

temperatura în manta la 40 °C. S-a adăugat în porții, prin pâlnia de alimentare, hidrat de hidrazină (1300 g de 55 %g/g, 22,31 mol), în 30 min. Masa de reacție a fost încălzită la 60 °C timp de 1 oră. Amestecul de reacție a fost răcit la 20 °C și s-a adăugat în porții trietilamină (2,483 kg, 3,420 L, 24,54 mol), menținând temperatura de reacție <30 °C. S-a adăugat în porții o soluție de Boc anhidridă (di-*tert*-butil dicarbonat) (4,967 kg, 5,228 L, 22,76 mol) în MeOH (2,860 L) menținând temperatura <45 °C. Amestecul de reacție a fost agitat la 20 °C timp de 16 h. Soluția de reacție a fost concentrată parțial pentru a îndepărta MeOH, conducând la un, ulei limpede de culoare chihlimbar deschis. Uleiul rezultat a fost transferat în reactorul de 50L, agitat, și s-au adăugat apă (7,150 L) și heptan (7,150 L). Adăugările au făcut ca o cantitate mică din produs să precipite. Stratul apos a fost drenat într-un recipient curat, și interfața și stratul de heptan au fost filtrate pentru a separa solidul (produsul). Stratul apos a fost transferat înapoi în reactor, și solidul colectat a fost plasat din nou într-un reactor și amestecat cu stratul apos. La reactor s-a adăugat o pâlnie de picurare și s-a încărcat cu acid acetic (1,474 kg, 1,396 L, 24,54 mol) care s-a adăugat în picătură. Mantaua a fost setată la 0 °C pentru a absorbi căldura reacției de stingere exoterme. După ce adăugarea a fost completă (pH=5), amestecul de reacție a fost agitat timp de 1 oră. Solidul a fost colectat prin filtrare și spălat cu apă (7,150 L), și spălat a doua oară cu apă (3,575 L). Solidul cristalin a fost transferat într-un evaporator rotativ cu bec de 20 L, și s-a adăugat heptan (7,150 L). Amestecul a fost suspendat la 45 °C timp de 30 minute, și 1-2 volume de solvent au fost îndepărtate prin distilare. Suspensia din balonul evaporatorului rotativ a fost filtrată, și solidele au fost spălate cu heptan (3,575 L). Solidul a fost uscat mai departe in vid (50 °C, 15 mbar) pentru a da 5-oxo-1*H*-pirazol-2-carboxilat de *tert*-butil (2921 g, 71%) ca solid cristalin grosier. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,95 (s, 1H), 7,98 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 5,90 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 1,54 (s, 9H).

Sinteză de 1,3-dimetil-1*H*-pirazol-4-sulfonamidă

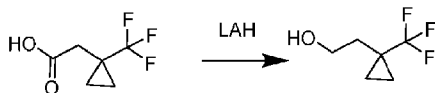
25



Hidroxid de amoniu (aproximativ 186,5 mL de 28 %m/v, 1,490 mol) a fost răcit la 0-5 °C într-un vas de reacție cu manta. S-a adăugat o soluție de clorură 1,3-dimetilpirazol-4-sulfonil (29,0 g, 149,0 mmol) în DCM (116,0 mL) în timp ce temperatura reacției s-a menținut între 0 până la 5 °C. Cele două faze au fost separate, și faza organică a fost spălată cu apă (100 mL). Fazele apoase au fost combinate și concentrate pentru a îndepărta majoritatea din amoniacul rezidual. Faza apoasă a fost extrasă de două ori cu acetat de etil (200 mL și 100 mL). Fazele organice au fost combinate, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate pentru a da 14,1 g de solid alb. Faza apoasă a fost acidulată cu acid citric (aproximativ 28,63 g, 17,20 mL, 149,0 mmol) (pH ~ 2). Faza apoasă acidă a fost extrasă de două ori cu acetat de etil (200 mL și 100 mL). Fazele organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu, și concentrate pentru a da încă 7,8 g de solid alb. Solidele au fost combinate și recristalizate din acetat de etil (50 mL) fierbinte (78 °C), pentru a da 16,1 g de 1,3-dimetil-1*H*-pirazol-4-sulfonamidă ca solid alb, cristalin.

¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 8,01 (s, 1H), 7,16 (s, 2H), 3,77 (s, 3H), 2,77 (s, 3H).

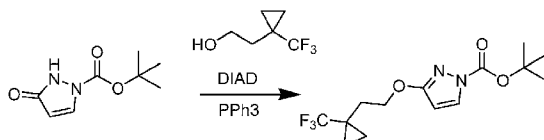
Sinteză de 2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etanol



La o soluție de hidruură de litiu aluminiu (293 mg, 7,732 mmol) în THF (10,00 mL) într-o baie de gheață, s-a adăugat în picătură acid 2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]acetic (1,002 g, 5,948 mmol) în THF (3,0 mL), într-o perioadă de 30 minute, menținând temperatura reacției mai jos de 20 °C. Amestecul a fost lăsat să se încălzească treptat la temperatura ambiantă și a fost agitat timp de 18 h. Amestecul a fost răcit cu o baie de gheață și stins secvențial cu apă (294 mg, 295 μL, 16,36 mmol), NaOH (297 μL de 6 M, 1,784 mmol), și apoi apă (884,0 μL, 49,07 mmol) pentru a da un solid granular în amestec. Solidul a fost separat prin filtrare utilizând Celite, și precipitatul a fost spălat cu eter. Filtratul a fost uscat mai departe cu MgSO₄ și filtrat și concentrat in vid pentru a da produsul cu THF rezidual și eter. Amestecul a fost preluat direct în etapa următoare fără purificare suplimentară.

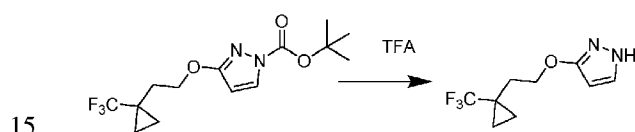
Etapa 1: 3-[2-[1-(Trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil

55



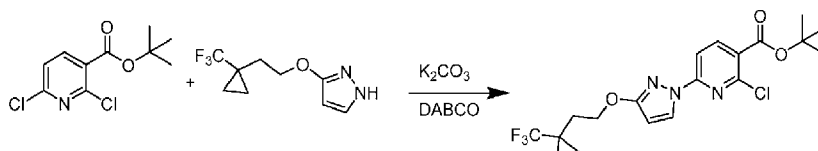
5-Oxo-1H-pirazol-2-carboxilat de *tert*-butil (1,043 g, 5,660 mmol), 2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etanol (916 mg, 5,943 mmol), și trifenil fosfină (1,637 g, 6,243 mmol) au fost combinate în THF (10,48 mL), și masa de reacție a fost răcită într-o baie de gheață. Azodicarboxilat de diizopropil (1,288 g, 1,254 mL, 6,368 mmol) s-a adăugat în picătură la amestecul de reacție, și masa de reacție a fost lăsată să se încălzească la temperatura camerei timp de 16 ore. Amestecul a fost evaporat, și materialul rezultat a fost partiționat între acetat de etil (30 mL) și hidroxid de sodiu 1 N (30 mL). Stratul organic a fost separat, spălat cu saramură (30 mL), uscat pe sulfat de sodiu, și concentrat. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluand cu un gradient de acetat de etil în hexani (0-30%) pentru a da 3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (1,03 g, 57%). ESI-MS *m/z* calc. 320,13, găsit 321,1 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 0,72 minute.

Etapa 2: 3-[2-[1-(Trifluorometil)ciclopropil]etoxi]-1H-pirazol



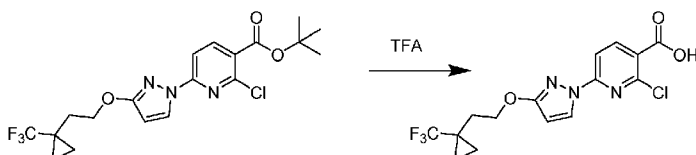
3-[2-[1-(Trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (1,03 g, 3,216 mmol) a fost dizolvat în diclorometan (10,30 mL) cu acid trifluoroacetic (2,478 mL, 32,16 mmol), și masa de reacție a fost agitată la temperatura camerei timp de 2 ore. Masa de reacție a fost evaporată, și uleiul rezultat a fost partiționat între acetat de etil (10 mL) și o soluție saturată de bicarbonat de sodiu. Stratul organic a fost separat, spălat cu saramură, uscat pe sulfat de sodiu, și evaporat pentru a da 3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]-1H-pirazol (612 mg, 86%). ESI-MS *m/z* calc. 220,08, găsit 221,0 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 0,5 minute. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11,86 (s, 1H), 7,50 (t, *J* = 2,1 Hz, 1H), 5,63 (t, *J* = 2,3 Hz, 1H), 4,14 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H), 2,01 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H), 0,96 - 0,88 (m, 2H), 0,88 - 0,81 (m, 2H).

Etapa 3: 2-Cloro-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il] piridin-3-carboxilat de tert-butil



2,6-Dicloropiridin-3-carboxilat de *tert*-butil (687 mg, 2,770 mmol), 3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]-1H-pirazol (610 mg, 2,770 mmol), și carbonat de potasiu proaspăt mărunțit (459 mg, 3,324 mmol) au fost combinate în DMSO anhidru (13,75 mL). S-a adăugat 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octan (DABCO (1,4-diazabicyclo[2,2,2]octan), 62 mg, 0,5540 mmol), și amestecul a fost agitat la temperatura camerei sub azot timp de 16 ore. Amestecul de reacție a fost diluat cu apă (20 mL) și agitat timp de 15 minute. Solidul rezultat a fost colectat și spălat cu apă. Solidul a fost dizolvat în diclorometan și uscat pe sulfat de magneziu. Amestecul a fost filtrat și concentrat pentru a da 2-cloro-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *tert*-butil (1,01 g, 84%). ESI-MS *m/z* calc. 431,12, găsit 432,1 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 0,88 minute.

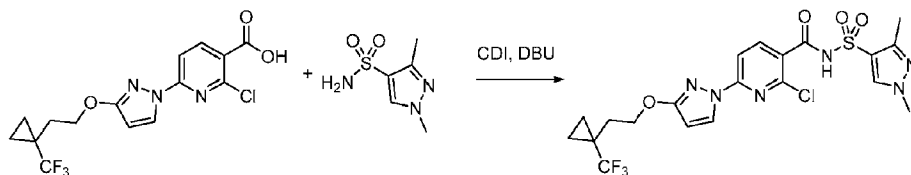
Etapa 4: Acid 2-cloro-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic



2-Cloro-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *tert*-butil (1,01 g, 2,339 mmol) și acid trifluoroacetic (1,8 mL, 23,39 mmol) au fost combinați în diclorometan (10 mL) și încălziți la 40 °C timp de 3 ore. Masa de reacție a fost concentrată. S-au adăugat hexani, și amestecul a fost concentrat din nou pentru a da acid 2-cloro-6-[3-[2-[1-

(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]piridin-3- carboxilic (873 mg, 99%) ESI-MS m/z calc. 375,06, găsit 376,1 ($M+1$)⁺; Timp de retenție: 0,69 minute.

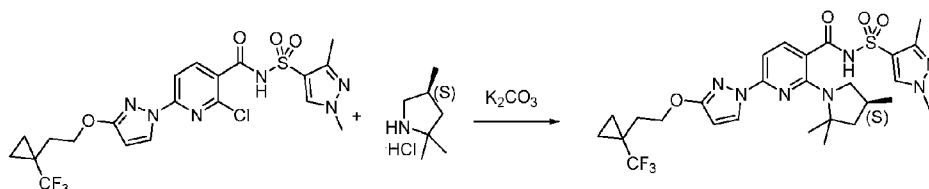
Etapă 5: 2-Cloro-*N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă



Acid 2-cloro-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]piridin-3- carboxilic (6 g, 15,97 mmol) in THF (60,00 mL) a fost tratat cu CDI (aproximativ 3,107 g, 19,16 mmol), și soluția tulbure a fost agitată la temperatura camerei timp de 1 oră. Apoi s-a adăugat 1,3-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (aproximativ 3,110 g, 17,57 mmol), urmată de DBU (aproximativ 2,917 g, 2,865 mL, 19,16 mmol), și masa de reacție a fost agitată la temperatura camerei timp de 12 ore. Amestecul a fost tratat cu acid citric rece (aproximativ 83,84 mL de 1 M, 83,84 mmol) pentru a da o emulsie. Cea mai mare parte din THF a fost îndepărtată sub presiune redusă și extrasă cu acetat de etil (100 ml), spălată cu 0,5 M acid citric (80 ml) și saramură (80 ml) și fazele apoase au fost reextrase o dată cu acetat de etil (80 ml). Fazele organice combinate au fost uscate, filtrate și evaporate. Produsul brut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel cu un gradient liniar de diclorometan până la 2% metanol. Frațiunile de produs au fost evaporate pentru a da 2-cloro-*N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (4,64 g, 53%). ESI-MS m/z calc. 532,09076, găsit 533,0 ($M+1$)⁺; Timp de retenție: 1,83 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12,73 (s, 1H), 8,41 (d, J = 2,5 Hz, 2H), 8,10 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,69 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,19 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 4,34 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 3,84 (s, 3H), 2,35 (s, 3H), 2,09 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 1,01 - 0,82 (m, 4H).

Etapă 6: *N*-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă

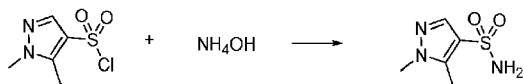


2-Cloro-*N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (5,9 g, 10,74 mmol) a fost dizolvată în NMP (28,62 mL) și 1,2-dietoxietan (5,723 mL), tratată cu carbonat de potasiu (aproximativ 7,422 g, 53,70 mmol) și (4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (aproximativ 3,537 g, 23,63 mmol), supusă ciclului de vid/azot de 3 ori și încălzită la 130 °C (în baie de ulei la 135 °C) sub agitare și azot timp de 20 ore. Suspensia reacției a fost răcită, diluată cu apă (34,34 mL) și adăugată cu grijă la o soluție agitată puternic, de acid acetic (aproximativ 9,674 g, 9,161 mL, 161,1 mmol) în apă (137,4 mL). Suspensia a fost agitată la temperatura camerei timp de o oră, filtrată și spălată cu multă apă. Produsul brut încă umezit cu apă a fost dizolvat în etanol cald (~100 ml, soluție tulbure maro), limpezit cu cărbune pe Celite (doar puțin mai deschis la culoare) și soluția fierbinte limpede a fost tratată cu apă (~25 ml) până s-a tulburat. Soluție fierbinte tulbure a fost lăsată să se răcească la temperatura camerei sub agitare timp de 2 ore pentru a da o suspensie groasă. Solidul a fost colectat prin filtrare, spălat cu etanol/apă 1:1 rece și cu multă apă. Solidul a fost uscat sub vid într-un uscător dulap la 45 °C cu un curent de azot pe timpul sfârșitului de săptămână pentru a da *N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (4,27 g, 65%). ESI-MS m/z calc. 609,2345, găsit 610,0 ($M+1$)⁺; Timp de retenție: 3,07 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12,35 (s, 1H), 8,38 (s, 1H), 8,20 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,74 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,91 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,11 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,31 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 3,81 (s, 3H), 2,55 (t, J = 10,5 Hz, 1H), 2,41 (dd, J = 10,1, 7,1 Hz, 1H), 2,33 (s, 3H), 2,18 (dp, J = 17,8, 6,2 Hz, 1H), 2,07 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 1,87 (dd, J = 11,9, 5,6 Hz, 1H), 1,55 (d, J = 11,1 Hz, 6H), 1,42 (t, J = 12,2 Hz, 1H), 0,99 - 0,86 (m, 4H), 0,82 (d, J = 6,3 Hz, 3H).

Sintează de *N*-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă

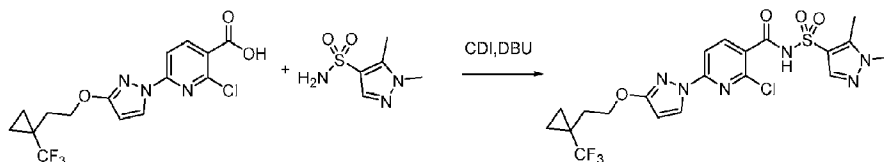
Etapa 1: 1,5-Dimetilpirazol-4-sulfonamidă (Compusul 14)



Clorura de 1,5-dimetilpirazol-4-sulfonil (9 g, 46,24 mmol) a fost suspendată în hidroxid de amoniu rece (54 mL de 30 %g/g), și s-a adăugat THF (27,00 mL) drept co-solvent, și emulsia tulbure a fost agitată la temperatura camerei timp de 2 ore. Amestecul a fost concentrat sub presiune redusă (se îndepărtează THF și amoniacul) pentru a da o suspensie bună. Solidul a fost colectat prin filtrare, spălat cu gheață-apă și uscat pentru a da 1,5-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (7,35 g, 90%) ca un solid alburiu. ESI-MS *m/z* calc. 175,04155, găsit 176,0 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 2,8 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,58 (s, 1H), 7,18 (s, 2H), 3,75 (s, 3H), 2,41 (s, 3H).

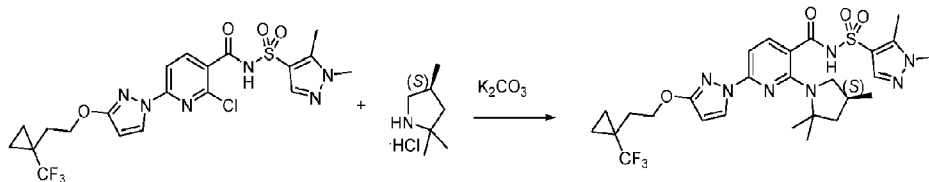
Etapa 2: 2-Cloro-*N*-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă



Acidul 2-cloro-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (6 g, 15,97 mmol) în THF (60,00 mL) a fost tratat cu CDI (aproximativ 3,107 g, 19,16 mmol), și soluția tulbure a fost agitată la temperatura camerei timp de 1 oră. Apoi s-a adăugat 1,5-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (aproximativ 3,110 g, 17,57 mmol), urmată de DBU (aproximativ 2,917 g, 2,865 mL, 19,16 mmol), și suspensia groasă formată a fost agitată la temperatura camerei timp de 4 ore. Suspensia a fost tratată cu acid citric rece (aproximativ 83,84 mL de 1 M, 83,84 mmol), și cea mai mare parte din THF s-a îndepărțat sub presiune redusă, și solidul colectat prin filtrare, spălat cu mai multă apă și uscat prin aspirație. Produsul brut (8 g) a fost cristalizat din etanol (150 ml pentru soluție la reflux) pentru a da 2-cloro-*N*-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (6,9 g, 80%) ca un solid alburiu. ESI-MS *m/z* calc. 532,09076, găsit 533,0 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 0,53 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,73 (s, 1H), 8,41 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 8,09 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,69 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,19 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 4,34 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H), 3,82 (s, 3H), 2,52 (s, 3H), 2,08 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H), 1,02 - 0,84 (m, 4H).

Etapa 3: *N*-(1,5-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă



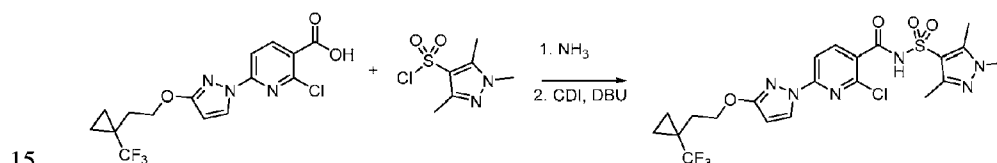
2-Cloro-*N*-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (137 mg, 0,2571 mmol), (4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (115 mg, 0,7684 mmol), și carbonat de potasiu (214 mg, 1,548 mmol) au fost combinate în DMSO (685,0 μL) și încălzite la 130 °C timp de 16 h. Masa de reacție a fost răcită la temperatura camerei, și s-a adăugat 1 mL de apă. După 15 minute de agitare, conținuturile flaconului au fost lăsate să se decanteze, și porțiunea lichidă a fost îndepărțată cu pipeta, și solidele rămase au fost dizolvate cu 20 mL acetat de etil, apoi spălate cu 15 mL acid citric 1 M. Stratul apos și organic au fost separate, și stratul apos a fost extras încă de două ori cu 15 mL de acetat de etil. Organicele au fost combinate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Solidul rezultat a fost purificat suplimentar prin cromatografie pe silicagel eluand cu metanol 0-10% în diclorometan pentru a da un solid alb, *N*-(1,5-dimetilpirazol-4-

il)sulfonil-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (93 mg, 59%). ESI-MS *m/z* calc. 609,2345, găsit 610,3 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 2,09 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 12,31 (s, 1H), 8,20 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,73 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,11 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 4,31 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 3,78 (s, 3H), 2,58 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 2,53 (s, 3H), 2,41 (dd, *J* = 10,3, 7,0 Hz, 1H), 2,17 (dq, *J* = 11,9, 6,0 Hz, 1H), 2,07 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H), 1,91 - 1,82 (m, 1H), 1,57 (s, 3H), 1,53 (s, 3H), 1,43 (t, *J* = 12,1 Hz, 1H), 0,96 (td, *J* = 5,0, 4,5, 3,2 Hz, 2H), 0,93 - 0,85 (m, 2H), 0,80 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H).

Sinteză de 6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]-*N*-(1,3,5-trimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 18)

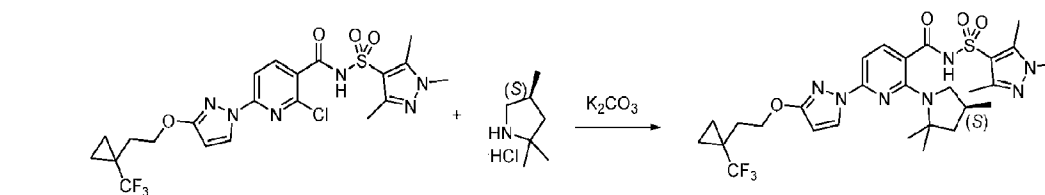
Etapa 1: 2-Cloro-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]-*N*-(1,3,5-trimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă



Acid 2-cloro-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (100 mg, 0,2661 mmol) și CDI (aproximativ 51,38 mg, 0,3169 mmol) s-au combinat în THF (600,0 μL) și s-au agitat la temperatura camerei timp de 2 ore. Între timp, clorura de 1,3,5-trimetilpirazol-4-sulfonil (aproximativ 55,53 mg, 0,2661 mmol) a fost combinată cu amoniac (aproximativ 250,0 μL de 7 M, 1,750 mmol) (în metanol) într-un flacon separat, formând instant un solid alb. După agitare timp de încă 20 min, volatilele au fost îndepărtate prin evaporare, și la reziduul solid s-a adăugat 1 mL de diclorometan, și de asemenea s-a evaporat. S-a adăugat DBU (aproximativ 54,41 mg, 53,45 μL, 0,3574 mmol) și s-a agitat la 60 °C timp de 5 minute, (pentru a facilita îndepărtarea amoniacului din puțina clorură de amoniu reziduală) urmată de 1 mL THF, care a fost ulterior evaporat. Conținuturile flaconului conținând acid carboxilic activat de CDI în THF au fost apoi adăugate la un flacon conținând sulfonamida nou formată și DBU, și amestecul de reacție a fost agitat timp de 4 ore la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost diluat cu 10 mL acetat de etil, și spălat cu 10 mL acid citric 1 M. Stratul apos a fost extras cu acetat de etil (2 x 10 mL), și organicele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și concentrate pentru a da un solid alb. Acest material a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară.

2-Cloro-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]-*N*-(1,3,5-trimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă (139 mg, 96%). ESI-MS *m/z* calc. 546,1064, găsit 547,1 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 0,7 minute.

Etapa 2: 6-[3-[2-[1-(Trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]-*N*-(1,3,5-trimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă

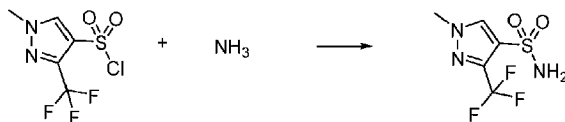


2-Cloro-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]-*N*-(1,3,5-trimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă (139 mg, 0,2541 mmol), (4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (114 mg, 0,7617 mmol), și carbonat de potasiu (211 mg, 1,527 mmol) au fost combinate în DMSO (508,2 μL) și încălzite la 130 °C timp de 16 h. Masa de reacție a fost răcită la temperatura camerei, și s-a adăugat 1 mL de apă. După agitare 15 minute, conținuturile flaconului au fost lăsate să se decanteze, porțiunea lichidă a fost îndepărtată cu pipeta, și solidele rămase au fost dizolvate cu 20 mL acetat de etil, apoi spălate cu 15 mL acid citric 1 M. Stratul apos și organic au fost separate, și stratul apos a fost extras încă de două ori cu 15 mL de acetat de etil. Organicele au fost combinate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Solidul rezultat a fost purificat suplimentar prin cromatografie pe silicagel eluând cu metanol 0-10% în diclorometan pentru a da un solid alb, 6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]-*N*-(1,3,5-trimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (80 mg, 50%) ESI-MS *m/z* calc. 623,2502, găsit 624,3 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 2,16 minute.

Sintează de *N*-[1-metil-3-(trifluorometil)pirazol-4-il]sulfonil-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 55)

Etapa 1: 1-Metil-3-(trifluorometil)pirazol-4-sulfonamidă

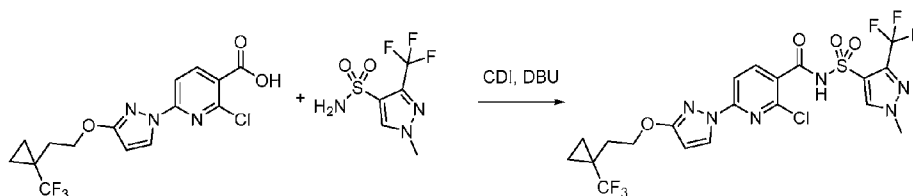
5



Clorura de 1-metil-3-(trifluorometil)pirazol-4-sulfonil (250 mg, 1,006 mmol) a fost dizolvată în THF (2 mL), și s-a adăugat amoniac în metanol (750 μ L de 7 M, 5,2 mmol). Masa de reacție a fost agitată la temperatura camerei timp de 3 ore. Amestecul de reacție a fost evaporat la sec, și reziduul a fost suspendat în acetat de etil și încălzit timp de 20 min la 65 °C. Amestecul a fost filtrat fierbinte (pentru a îndepărta clorura de amoniu formată în reacție), și solidele au fost eliminate. Lichidul mamă a fost evaporat pentru a da 1-metil-3-(trifluorometil)pirazol-4-sulfonamidă (186 mg, 81%) ESI-MS *m/z* calc. 229,01328, găsit 230,0 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 0,28 minute.

15

Etapa 2: 2-Cloro-*N*-[1-metil-3-(trifluorometil)pirazol-4-il]sulfonil-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă



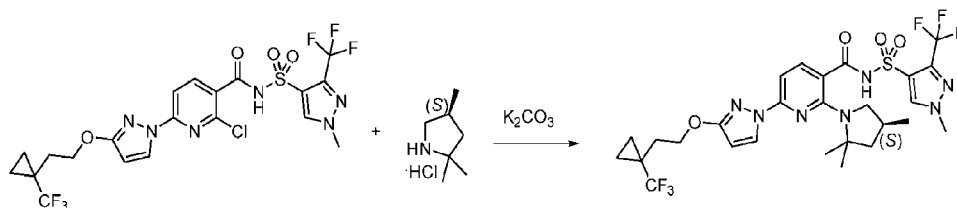
20

Acid 2-cloro-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (51 mg, 0,14 mmol) și CDI (37 mg, 0,23 mmol) s-au combinat în THF (1 mL) și s-au agitat timp de 1 oră la temperatura camerei. S-au adăugat 1-metil-3-(trifluorometil)pirazol-4-sulfonamidă (34 mg, 0,15 mmol) și DBU (64 μ L, 0,4280 mmol), și masa de reacție a fost agitată timp de încă 16 h. Amestecul de reacție a fost partiționat între acetat de etil și o soluție de acid citric 1 M. Organicile au fost separate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și evaporate. Materialul brut a fost utilizat direct în etapa următoare. 2-Cloro-*N*-[1-metil-3-(trifluorometil)pirazol-4-il]sulfonil-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (82 mg, 100%) ESI-MS *m/z* calc. 586,0625, găsit 587,2 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 0,73 minute

25

Etapa 3: *N*-[1-Metil-3-(trifluorometil)pirazol-4-il]sulfonil-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă

30



35

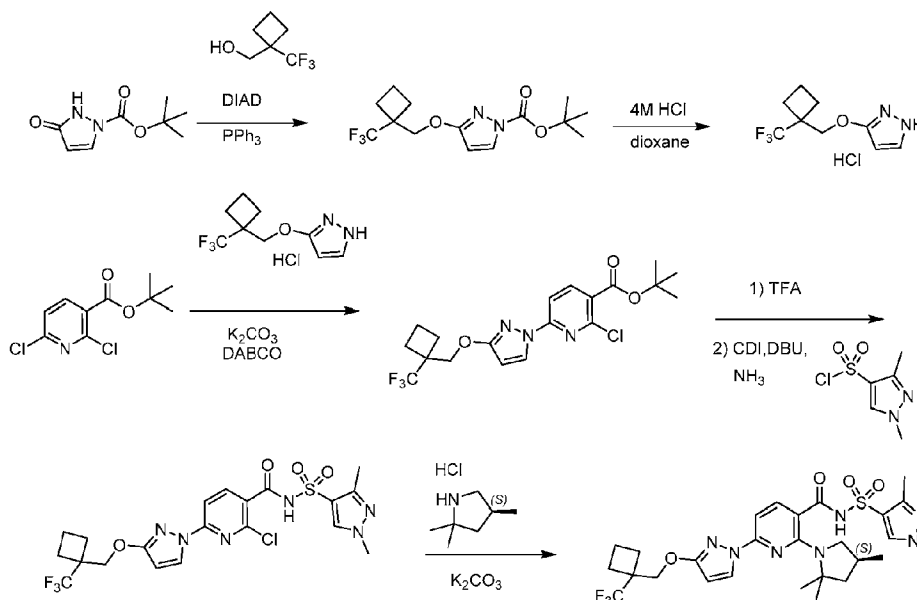
2-Cloro-*N*-[1-metil-3-(trifluorometil)pirazol-4-il]sulfonil-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (82 mg, 0,14 mmol), (4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (64 mg, 0,43 mmol), și carbonat de potasiu (100 mg, 0,724 mmol) s-au combinat în DMSO (1 mL) și s-au încălzit la 130 °C timp de 16 h. Amestecul de reacție a fost diluat cu apă (3 mL) conducând la o rășină. Apa a fost decantată și eliminată. Reziduul a fost partiționat între acetat de etil și o soluție de acid citric 1 M. Organicile au fost separate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și evaporate. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluand cu metanol 0-10% în diclorometan pentru a da *N*-[1-metil-3-(trifluorometil)pirazol-4-il]sulfonil-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (29,6 mg, 32%). ESI-MS *m/z* calc. 663,20624, găsit 664,4 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 2,16 minute.

45

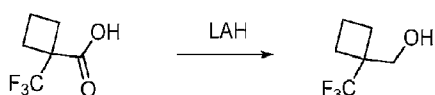
¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,87 (s, 1H), 8,79 (s, 1H), 8,20 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 7,74 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,91 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,11 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 4,31 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H), 3,99 (s, 3H), 2,56 (d, *J* = 10,5 Hz, 1H), 2,45 (*dd*, *J* = 3,9, 2,0 Hz, 1H), 2,29 - 2,12 (m, 1H), 2,07 (t, *J* = 7,1

Hz, 2H), 1,88 (dd, $J = 12,0, 5,7$ Hz, 1H), 1,56 (s, 3H), 1,54 (s, 3H), 1,42 (t, $J = 12,1$ Hz, 1H), 0,99 - 0,92 (m, 2H), 0,90 (d, $J = 10,7$ Hz, 2H), 0,80 (d, $J = 6,2$ Hz, 3H).

Sinteză de *N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclobutil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 19)

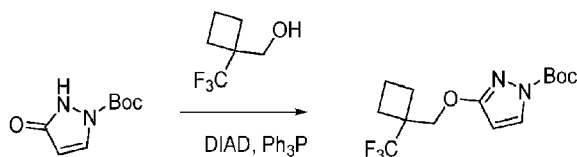


Sinteză de (1-trifluorometil-ciclobutil)-metanol



Acid 1-trifluorometil-ciclobutancarboxilic (5,0 g, 30. mmol) a fost dizolvat în dietil eter (60 mL) și răcit la 0 °C. S-a adăugat în picătură hidru de litiu aluminiu (38,66 mL, 1 M în dietil eter), și soluția a fost lăsată să se încălzească la temperatura camerei peste noapte. Soluția de reacție a fost răcită la 0 °C cu agitare, și s-a adăugat sulfat de sodiu decahidrat, care a condus la degajare treptată de gaz. Adăugarea în porții a fost continuată până când nu s-a mai observat barbotare la temperatura camerei. Soluția de reacție a fost apoi filtrată printr-un strat de Celite, spălând cu dietil eter. Filtratul a fost concentrat sub presiune redusă pentru a da 5,44 g dintr-un amestec conținând produsul dorit și puțin dietil eter reziduu (36% prin integrare RMN). Acesta a dat 1-trifluorometil-ciclobutil-metanol (3,46 g, 78%) ca ulei incolor. ^1H RMN (250 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 3,82 (s, 2H), 2,39-2,14 (m, 2H), 2,10-1,85 (m, 4H).

Etapă 1: Ester *terț*-butilic al acidului 3-(1-trifluorometil-ciclobutilmetoxi)-pirazol-1-carboxilic

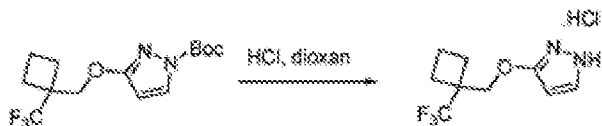


1-Trifluorometil-ciclobutil-metanol (1,50 g, 9,73 mmol) și ester *terț*-butilic al acidului 3-oxo-2,3-dihidro-pirazol-1-carboxilic (1,63 g, 8,85 mmol) s-au dizolvat în tetrahidrofuran anhidru (32 mL). Soluția a fost degazată prin sonicare și suflată cu azot gazos. S-a adăugat trifetilfosfină (2,55 g, 9,73 mmol), și apoi s-a adăugat în picătură azodicarboxilat de diizopropil (1,92 mL, 9,73 mmol). După terminarea adăugării, masa de reacție a fost încălzită la 50 °C timp de 16 ore. După răcire la temperatura camerei, masa de reacție a fost diluată cu acetat de etil (100 mL) și spălată cu soluție de hidroxid de sodiu (2 x 100 mL) 1 M, apoi cu saramură (125 mL). Organicele au fost uscate pe sulfat de sodiu, filtrate, și concentrate sub presiune redusă. Uleiul galben brut a fost purificat prin flash cromatografie utilizând o metodă cu gradient acetat de etil 0-10% în hexani pentru a da ester *terț*-butilic al acidului 3-(1-trifluorometil-ciclobutilmetoxi)-pirazol-1-carboxilic

(2,48 g, 87%) ca un solid alburiu. ESI-MS m/z calc. 320,31, găsit 321,1 ($M+1$)⁺. Timp de retenție: 3,74 minute

Etapă 2: 3-(1-Trifluorometil-ciclobutilmetoxi)-1H-pirazol, ca sare clorhidrat

5

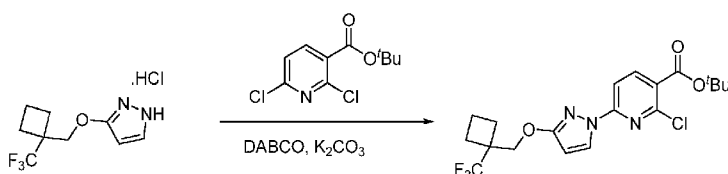


Ester *terț*-butilic al acidului 3-(1-trifluorometil-ciclobutilmetoxi)-pirazol-1-carboxilic (2,48 g, 7,74 mmol) a fost dizolvat în acid clorhidric 4 M în dioxan (77 mL). Soluția a fost agitată peste noapte la temperatura camerei, urmată de îndepărtarea volatilelor sub presiune redusă pentru a da sarea clorhidrat de 3-(1-trifluorometil-ciclobutilmetoxi)-1H-pirazol (1,95 g, 98%) ca pulbere albă. ESI-MS m/z calc. 220,20, găsit 221,2 ($M+1$)⁺. Timp de retenție: 2,67 minute.

10

Etapă 3: Ester *terț*-butilic al acidului 2-cloro-6-[3-(1-trifluorometil-ciclobutilmetoxi)-pirazol-1-il]-nicotinic

15



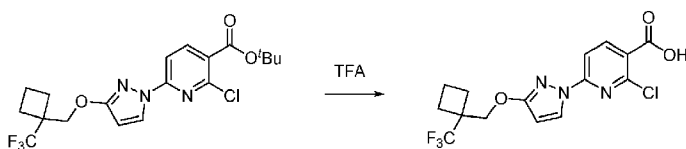
20

25

3-(1-Trifluorometil-ciclobutilmetoxi)-1H-pirazol sare clorhidrat (1,95 g, 7,61 mmol) și ester *terț*-butilic al acidului 2,6-dicloro-nicotinic (1,89 g, 7,62 mmol) au fost dizolvați în dimetilformamidă (15 mL), și s-a adăugat carbonat de potasiu (4,21 g, 30,5 mmol) urmat de 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octan (0,43 g, 3,8 mmol). Masa de reacție a fost agitată la temperatura camerei peste noapte, apoi s-a adăugat apă (150 mL) și stratul apos a fost extras cu acetat de etil:hexani 4:1 (100 mL). Faza organică a fost spălată cu saramură (70 mL), uscată pe sulfat de sodiu, și concentrată sub presiune redusă. Uleiul brut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel utilizând o metodă cu gradient acetat de etil 0-10% în hexani pentru a da ester *terț*-butilic al acidului 2-cloro-6-[3-(1-trifluorometil-ciclobutilmetoxi)-pirazol-1-il]-nicotinic (1,94 g, 66%) ca solid alb. ESI-MS m/z calc. 431,85, găsit 432,2 ($M+1$)⁺. Timp de retenție: 4,61 minute.

Etapă 4: Acid 2-cloro-6-[3-(1-trifluorometil-ciclobutilmetoxi)-pirazol-1-il]-nicotinic

30

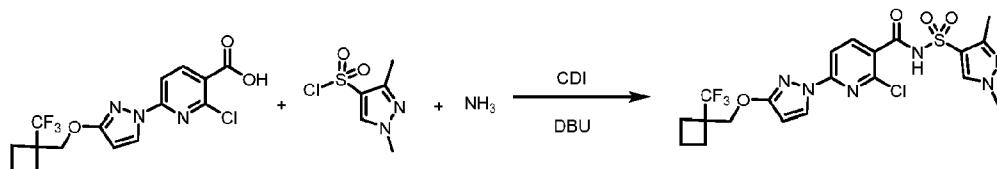


35

Ester *terț*-butilic al acidului 2-cloro-6-[3-(1-trifluorometil-ciclobutilmetoxi)-pirazol-1-il]-nicotinic (1,9 g, 4,40 mmol) a fost dizolvat în diclorometan (20 mL), și s-a adăugat acid trifluoroacetic (5,0 mL). Soluția de reacție a fost agitată la temperatura camerei peste noapte, după care volatilele au fost îndepărtate sub presiune redusă pentru a da acid 2-cloro-6-[3-(1-trifluorometil-ciclobutilmetoxi)-pirazol-1-il]-nicotinic (1,61 g, 97%) ca solid alb. ESI-MS m/z calc. 375,74, găsit 376,2 ($M+1$)⁺. Timp de retenție: 3,57 minute.

Etapă 5: 2-Cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclobutil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă

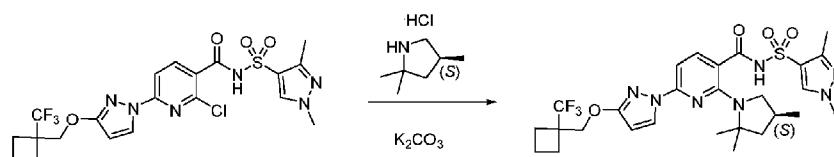
40



Acid 2-cloro-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclobutil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (100 mg, 0,2661 mmol) și CDI (51 mg, 0,3145 mmol) s-au combinat în THF (600,0 μ L) și s-au agitat la temperatura camerei timp de 2 ore într-un flacon (flaconul 1). Între timp, clorură de 1,3-dimetilpirazol-4-sulfonil (62 mg, 0,3185 mmol) a fost combinată cu amoniac (aproximativ 250,0 μ L de 7 M, 1,750 mmol) (în metanol) într-un flacon separat (flacon 2). După agitare timp de încă

20 min, volatilele au fost îndepărtate din flaconul 2 prin evaporare, și 1 mL de diclorometan s-a adăugat la reziduul solid, și a fost de asemenea evaporat. Apoi în flaconul 2 s-a adăugat DBU (60 μ L, 0,4012 mmol) și s-a agitat la 60 °C timp de 5 minute (pentru a facilita îndepărtarea amoniului din clorura de amoniu reziduală). După răcire la temperatura camerei, s-a adăugat 1 mL THF și apoi s-a evaporat sub presiune redusă. Conținutul flaconului 1 au fost apoi adăugat la flaconul 2 cu seringă, și amestecul de reacție a fost agitat timp de 4 ore la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost diluat cu 10 mL acetat de etil și spălat cu 10 mL acid citric 1 M. Stratul apos a fost extras 2 x 10 mL acetat de etil, și organicele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și concentrate pentru a da un solid alb. Acest material a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară. 2-Cloro-*N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclobutil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (132 mg, 93%) ESI-MS m/z calc. 532,09076, găsit 533,1 (M+1)+; Timp de retenție: 0,7 minute.

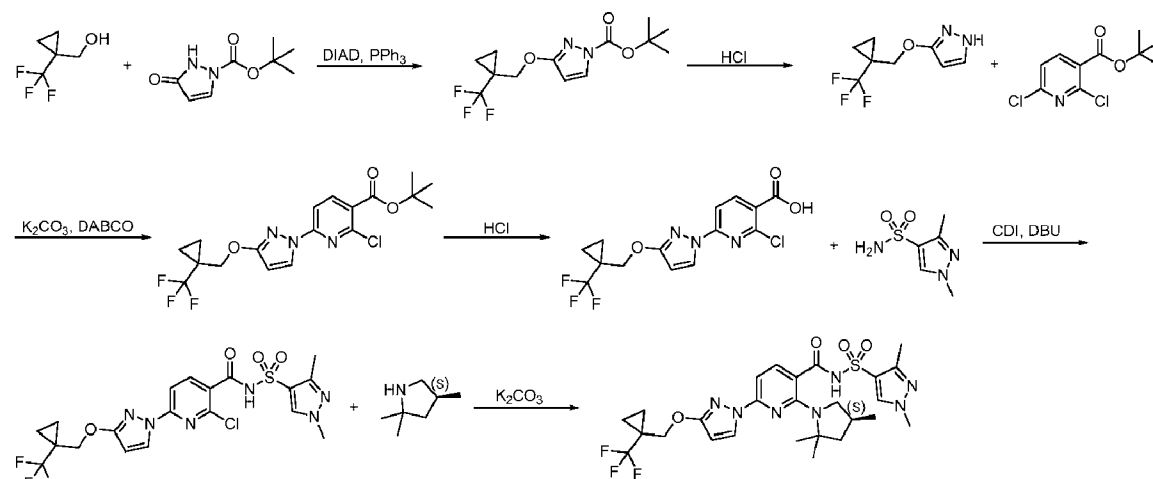
Etapă 6: *N*-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclobutil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă



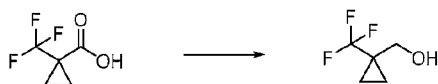
2-Cloro-*N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclobutil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (132 mg, 0,2477 mmol), (4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (111 mg, 0,7417 mmol), și carbonat de potasiu (206 mg, 1,491 mmol) au fost combinate în DMSO (500 μ L) și încălzite la 130 °C timp de 16 h. Masa de reacție a fost răcită la temperatura camerei, și s-a adăugat 1 mL de apă. După 15 minute de agitare porțiunea lichidă a fost îndepărtată cu pipeta, și solidele rămase au fost dizolvate cu 20 mL acetat de etil apoi spălate cu 15 mL acid citric 1 M. Stratul apos și organic au fost separate, și stratul apos a fost extras încă de două ori cu 15 mL acetat de etil. Organicele au fost combinate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și concentrate. Solidul rezultat a fost purificat suplimentar prin cromatografie pe silicagel eluand cu metanol 0-10% în diclorometan pentru a da un solid alb, *N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclobutil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (93 mg, 62%) ESI-MS m/z calc. 609,2345, găsit 610,3 (M+1)+; Timp de retenție: 2,14 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 12,36 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 8,22 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,75 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,95 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,18 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,48 (s, 2H), 3,81 (s, 3H), 2,56 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 2,41 (dd, J = 10,2, 7,0 Hz, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,31 - 2,26 (m, 2H), 2,20 - 2,07 (m, 4H), 2,01 - 1,92 (m, 1H), 1,88 (dt, J = 11,8, 6,5 Hz, 1H), 1,55 (d, J = 11,3 Hz, 6H), 1,42 (t, J = 12,2 Hz, 1H), 0,81 (d, J = 6,2 Hz, 3H).

Sinteză de *N*-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 10)

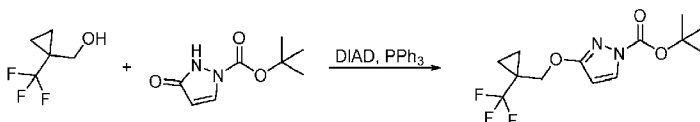


Etapă A: (1-(Trifluorometil)ciclopropil)metanol



Hidru $\acute{r}$ ă de litiu aluminiiu (aproximativ 78,45 g, 2,067 mol) (granule) s-a adăugat în balon, THF (2,450 L) s-a adăugat la pâlnie de alimentare, și sistemul a fost ciclat de 3 ori cu vid/azot. Solventul a fost adăugat repede la granulele LAH, agitat la temperatura camerei timp de 0,5 h (granulele încep să se desfacă pentru a da o suspensie gri), și s-a răcit într-o baie de gheață. S-a adăugat încet o soluție de acid 1-(trifluorometil)ciclopropancarboxilic (245 g, 1,590 mol) în THF (735,0 mL) printr-o palnie de alimentare în timp de 0,5-1 h, menținând temperatura internă mai jos de 30 °C. Suspensia gri a fost agitată în baia de gheață care se topea, timp de 14 ore. Suspensia gri a fost stinsă sub răcire cu gheață prin adăugare lentă de apă (aproximativ 75,92 g, 75,92 mL, 4,214 mol), urmată de NaOH (aproximativ 76,32 mL de 6 M, 457,9 mmol) și apă (aproximativ 75,92 g, 75,92 mL, 4,214 mol). Suspensia gri a fost agitată la ~50 °C până când solidul a devenit incolor (~0,5 h), tratată cu sulfat de magneziu (20 g), filtrată prin Celite, și sărurile de aluminiiu au fost spălate cu trei porții de THF fierbinte. Filtratul a fost uscat din nou pe sulfat de magneziu, filtrat, și concentrat prin evaporare la 55 °C și 450 mbar pentru a da [1-(trifluorometil)ciclopropil]metanol ca soluție 62 % în greutate (RMN) în THF (327 g, 91%).
¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 4,94 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 3,56 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 0,91 - 0,74 (m, 4H)

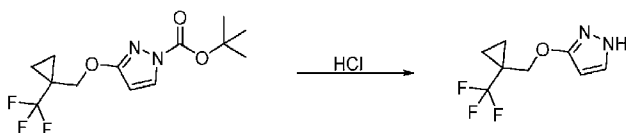
Etapă 1: 3-[[1-(Trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil



Un balon cu fund rotund cu 3 gâturi de 5000 mL a fost prevăzut cu un agitator mecanic, o manta de încălzire, o sondă/controlor de temperatură J-Kem, o palnie de alimentare, un condensator de reflux răcit cu apă, și o admisie/evacuare de azot. Vasul a fost încărcat sub o atmosferă de azot cu 5-oxo-1H-pirazol-2-carboxilat de *terț*-butil (70 g, 0,3800 mol) și tetrahidrofuran (840 mL, 12 mL/g) care a furnizat o soluție limpede galbenă pal. Agitarea a fost începută, și temperatura vasului a fost înregistrată la 19 °C. Vasul a fost apoi încărcat cu [1-(trifluorometil)ciclopropil]metanol (58,56 g, 0,4180 mol) adăugat pur într-o porție, urmat de trifenilfosfină (109,6 g, 0,4180 mol) adăugată ca solid într-o porție. Soluția limpede, galben pal rezultată a fost apoi tratată cu azodicarboxilat de diizopropil (lichid limpede roșiatic-portocaliu) (82,3 mL, 0,4180 mol) adăugat pur, în picătură într-o oră, ceea ce a condus la o exotermicitate treptată până la 40 °C și o soluție limpede, de culoare chihlimbar deschis. Amestecul de reacție a fost apoi încălzit la o temperatură în vas de 50 °C, și condițiile au fost menținute timp de 2 ore, cand analiza prin LC/MS a indicat consumul complet al materiei prime. Amestecul de reacție limpede, de culoarea chihlimbarului, a fost concentrat sub presiune redusă, și uleiul limpede rezultat, de culoarea chihlimbarului închis a fost suspendat în toluen (560 mL) și agitat la temperatura camerei timp de 1 oră, timp în care a precipitat un solid (trifenilfosfin oxid MW = 278,28). Suspensia groasă a fost filtrată printr-o pâlnie Buchner cu frită de sticlă, și turta de filtru a fost spălată cu toluen cu deplasare (150 mL) și apoi extrasă timp de 30 de minute. Filtratul limpede de culoarea chihlimbarului a fost concentrat sub presiune redusă pentru a furniza un ulei limpede, de culoarea chihlimbarului. Materialul a fost purificat prin flash cromatografie cu coloană pe silicagel (încărcare solidă pe Celite coloană 1,5 kg RediSep) eluând cu un gradient de hexan 100% până la EtOAc 20% în hexan colectând fracțiuni de 450 mL Produsul eluează în jur de EtOAc 5% în hexan. Frațiunile dorite au fost combinate și concentrate sub presiune redusă pentru a furniza un ulei limpede galben pal ca produs dorit, 3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (81 g, 0,264 mol, 70%).

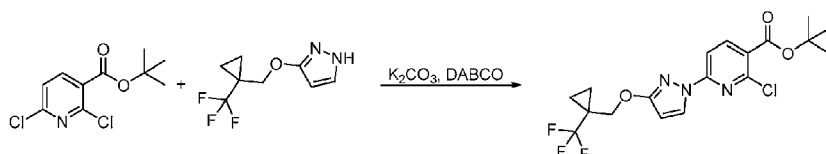
¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,10 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 6,14 (d, J = 3,0 Hz, 1H), 4,31 (s, 2H), 1,55 (s, 9H), 1,07 (dp, J = 4,9, 1,3 Hz, 4H). ESI-MS m/z calc. 306,11914, găsit 259,0 (M-48)+; Timp de retenție: 1,76 minute

Etapă 2: 3-[[1-(Trifluorometil)ciclopropil]metoxi]-1H-pirazol



Un balon cu fund rotund cu 3 gâturi de 5000 mL a fost prevăzut cu un agitator mecanic, o manta de încălzire, o sondă de temperatură J-Kem, un condensator de reflux răcit cu apă, o

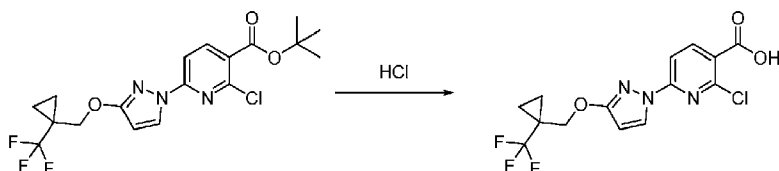
- palnie de alimentare, și o admisie/evacuare de azot. Vasul a fost încărcat sub o atmosferă de azot cu 3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (80 g, 0,2612 mol), diclorometan (320 mL, 4 mL/g) și alcool metilic (320 mL, 4 mL/g) care au furnizat o soluție galben pal, limpede. Agitarea a fost pornită, și temperatura vasului a fost înregistrată la 19 °C.
- 5 Pâlnia de alimentare a fost încărcată cu HCl 4 M în 1,4-dioxan (195,9 mL, 0,7836 mol) care a fost ulterior adăugat în picătură într-o oră ceea ce a condus la o exotermicitate treptată până la 30 °C. Soluția limpede galben pal rezultată a fost încălzită la o temperatură a vasului de 45 °C, și condițiile au fost menținute timp de 1 oră, când analiza prin LC/MS a indicat terminarea reacției. Amestecul de reacție a fost lăsat să se răcească la temperatura camerei și apoi concentrat sub
- 10 presiune redusă. Reziduul rămas a fost dizolvat în *terț*-butil metil eter (640 mL) și apoi transferat la o palnie de separare și partiționat cu soluție de hidroxid de sodiu 2 M (391,8 mL, 0,7836 mol). Stratul organic a fost îndepărtat, și soluția apoasă reziduală a fost extrasă cu *terț*-butil metil eter (2 x 200 mL). Stratul organic combinat a fost spălat cu soluție saturată de clorură de sodiu (500 mL), uscat pe sulfat de sodiu (300 g), și apoi filtrat printr-o palnie Buchner cu frită de sticlă. Filtratul
- 15 limpede galben pal a fost concentrat sub presiune redusă pentru a furniza un ulei limpede galben deschis care s-a solidificat prin ședere pentru a furniza un solid alb (49,5 g, 0,240 mol, 92%) ca produs dorit, 3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]-1*H*-pirazol. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11,90 (s, 1H), 7,51 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 5,67 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 4,19 (s, 2H), 1,09 - 0,97 (m, 4H). ESI-MS *m/z* calc. 206,0667, găsit 207,0 (M+1)⁺; Timp de retenție: 1,07 minute.
- 20 **Etapa 3: 2-Cloro-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]meth-oxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *terț*-butil**



- Un balon cu fund rotund cu 3 gâturi de 5000 mL a fost prevăzut cu un agitator mecanic, o baie de răcire utilizată ca izolare secundară, o sondă de temperatură J-Kem, un condensator de reflux răcit cu apă, o pâlnie de alimentare, și o admisie/evacuare de azot. Vasul a fost încărcat sub o atmosferă de azot cu 3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]-1*H*-pirazol (45 g, 0,2183 mol) și *N,N*-dimetilformamidă (540 mL, 12 mL/g) care a furnizat o soluție limpede, galben pal. Agitarea a fost pornită, și temperatura vasului a fost înregistrată la 17 °C. Vasul a fost apoi încărcat cu 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de *terț*-butil (54,16 g, 0,2183 mol) adăugat ca solid într-o porție. Soluția limpede galben pal rezultată a fost apoi tratată cu carbonat de potasiu (39,22 g, 0,2838 mol) adăugat ca solid într-o porție urmat de 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octan (3,67 g, 0,03274 mol) adăugat ca solid într-o porție. Suspensia galben pal rezultată a fost lăsată să se agite la temperatura camerei timp de 24 ore. Amestecul de reacție a fost răcit la 10 °C cu o baie de răcire cu gheață
- 25 zdrobită/apă. Pâlnia de alimentare a fost încărcată cu apă (540 mL) care s-a adăugat în picătură în timp de 45 minute ceea ce a condus la o suspensie groasă și o exotermicitate până la 15 °C. Suspensia rezultată a continuat să se agite la 15 °C timp de 30 minute și apoi a fost filtrată printr-o pâlnie Buchner cu frită de sticlă. Turta de filtru a fost spălată cu deplasare cu apă (2 x 500 mL) și apoi extrasă în Buchner timp de 2 ore. Materialul a fost apoi lăsat să se usuce la aer peste noapte pentru a furniza (73 g, 0,175 mol, 80%) de solid granular alb, 2-cloro-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *terț*-butil. ESI-MS *m/z* calc. 361,0441, găsit 361,9 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,27 minute.
- 30
- 35
- 40

Etapa 4: Acid 2-cloro-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic

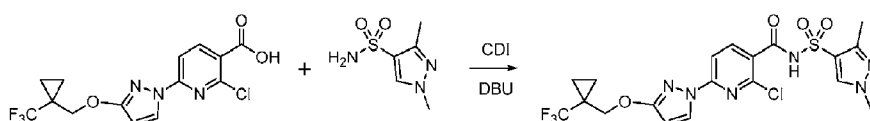
45



- Un balon cu fund rotund cu 3 gâturi de 1000 mL a fost prevăzut cu un agitator mecanic, o manta de încălzire, o sondă/controlor de temperatură J-Kem, o palnie de alimentare, un condensator de reflux răcit cu apă, și o admisie/evacuare de azot. Vasul a fost încărcat sub o atmosferă de azot cu 2-cloro-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *terț*-butil (70 g, 0,1675 mol) și 2-propanol (350 mL) care a furnizat o suspensie albicioasă. Agitarea a fost pornită, și temperatura vasului a fost înregistrată la 19 °C. Pâlnia de
- 50

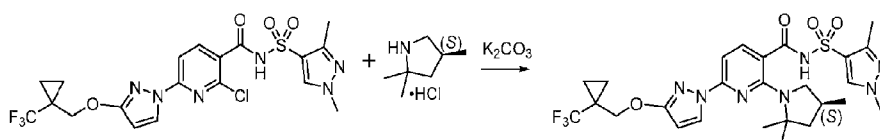
alimentare a fost încărcată cu HCl apos 6 M (139,6 mL, 0,8375 mol) care s-a adăugat în picătură în timp de 10 minute ceea ce a condus la o exotermicitate până la 30 °C. Suspensia rezultată a fost apoi încălzită la reflux (temperatura vasului ~82 °C). La încălzire, suspensia s-a transformat într-o soluție limpede de culoare galben pal (temperatura vasului ~75 °C în acest moment). După
 5 agitare la reflux timp de ~30 minute a început să precipite un solid. Suspensia a continuat să se agite la reflux timp de încă 30 minute moment la care s-a adăugat în picătură apă (210 mL) în timp de 15 minute. Căldura a fost apoi îndepărtată, și suspensia a continuat să se agită și a fost lăsată să se răcească încet la temperatura camerei. Materialul a fost colectat prin filtrare în vid într-o palnie Buchner cu frită de sticlă și turtă de filtru a fost spălată cu deplasare cu apă/2-propanol 1:1 (100
 10 mL) urmat de apă (2 x 100 mL) și apoi extrasă în Buchner timp de 30 minute. Materialul a fost uscat mai departe într-o etuvă la vid la 45 °C timp de 24 ore pentru a furniza acid 2-cloro-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (56 g, 0,155 mol, 92%) ca solid alb. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,64 (s, 1H), 8,44 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 8,41 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,74 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,24 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 4,41 (s, 2H), 1,16 - 1,07 (m, 4H). ESI-MS *m/z* calc. 361,0441, găsit 361,9 (M+1)⁺; Timp de retenție: 3,23 minute

Etapa 5: **2-Cloro-*N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă**



La o soluție de acid 2-cloro-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (1,05 g, 2,903 mmol) în THF (20,0 mL) s-a adăugat carbonil diimidazol (670,8 mg, 4,137 mmol). Soluția a fost agitată la temperatura camerei timp de 1 oră. Apoi, s-au adăugat 1,3-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (580,5 mg, 3,313 mmol) și DBU (670,0 μL, 4,480 mmol). Amestecul a fost agitat la temperatura camerei timp de 3 ore. Amestecul de reacție a fost stins cu soluție saturată de clorură de amoniu și extras cu acetat de etil. Extractele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și evaporate pentru a da 2-cloro-*N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (1,4 g, 93%) ca solid alb lipicios, care a fost utilizat ca atare în reacția următoare. ESI-MS *m/z* calc. 518,0751, găsit 519,4 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,66 minute.

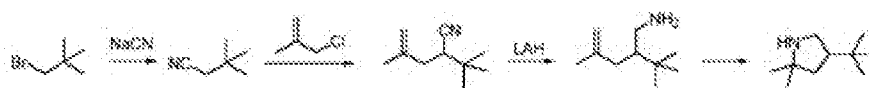
Etapa 6: ***N*-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă**



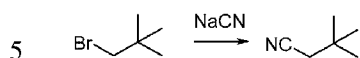
2-Cloro-*N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (190 mg, 0,3662 mmol) a fost dizolvată în DMSO (1 mL), și s-a adăugat (4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidină (aproximativ 124,4 mg, 1,099 mmol) urmată de carbonat de potasiu fin mărunțit (aproximativ 303,6 mg, 2,197 mmol). Amestecul de reacție a fost lăsat să se agite la 130 °C peste noapte. Amestecul de reacție a fost diluat cu EtOAc (50 mL) și spălat cu acid citric apos 1 M (1 x 50 mL) și saramură (1 x 50 mL). Stratul organic a fost uscat pe sulfat de sodiu, filtrat, și concentrat sub presiune redusă. Produsul a fost izolat prin cromatografie pe coloană cu silicagel: coloană cu silicagel 12 grame, gradient MeOH/DCM 0-5%. A fost obținută *N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (49,5 mg, 0,08310 mmol, 22,70%). ESI-MS *m/z* calc. 595,2189, găsit 596,5 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,06 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,32 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 8,21 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 7,73 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,91 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,14 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 4,42 - 4,30 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 2,56 (t, *J* = 10,4 Hz, 1H), 2,44 (t, *J* = 8,6 Hz, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,18 (dq, *J* = 12,0, 5,9 Hz, 1H), 1,87 (dd, *J* = 11,9, 5,6 Hz, 1H), 1,56 (s, 3H), 1,53 (s, 3H), 1,42 (t, *J* = 12,2 Hz, 1H), 1,12 - 1,05 (m, 4H), 0,82 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H).

Sinteza celor doi enantiomeri ai 2-(4-*terț*-butil-2,2-dimetil-pirolidin-1-il)-*N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidei



Separare SCF chirală

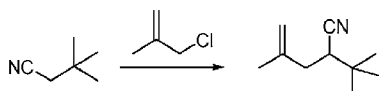
Etapa 1: 3,3-Dimetilbutannitril

Cianură de sodiu (9,20 g, 187,7 mmol) s-a adăugat la o soluție de 1-bromo-2,2-dimetilpropan (15,74 g, 104,2 mmol) în DMSO (100 mL), și amestecul de reacție a fost agitat la 90 °C peste noapte. O dată răcit la temperatura camerei amestecul de reacție a fost turnat în apă (900 mL) și extras utilizând dietil eter (3 x 300 mL). Straturile organice au fost combinate, spălate cu HCl 3 N (300 mL), apă (300 mL), și sare (300 mL), uscate pe sulfat de magneziu, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a da 3,3-dimetilbutannitril (11,78 g conținând 50% dietil eter, randament 58%) ca lichid limpede.

¹H RMN (300 MHz, CDC13) ppm 1,09 (s, 9 H), 2,22 (s, 2 H).

Etapa 2: 2-terț-Butil-4-metil-pent-4-enitril

15

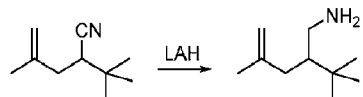


n-Butillitiu (27,2 mL de 2,5 M, 68,00 mmol) s-a adăugat la o soluție de diizopropilamină (8,7 mL, 62,07 mmol) în THF uscat (100 mL) la -78 °C, și amestecul a fost agitat la această temperatură timp de 15 minute, încălzit la 0 °C timp de 15 minute, apoi răcit din nou la -78 °C. După aceea, s-a adăugat 3,3-dimetilbutannitril (6,0 g, 61,75 mmol), și amestecul de reacție a fost agitat la -78 °C timp de 1 oră. S-a adăugat 3-cloro-2-metil-prop-1-enă (12,1 mL, 123,6 mmol), și amestecul de reacție a fost încălzit încet la temperatura camerei și agitat la temperatura camerei peste noapte. Amestecul de reacție a fost diluat cu DCM (200 mL) și spălat cu apă (3x100 mL). Stratul organic a fost uscat pe sulfat de magneziu și concentrat sub presiune redusă pentru a da 2-terț-butil-4-metil-pent-4-enitril (10,69 g, puritate 87% (13% THF), randament 99%) ca ulei galben.

¹H RMN (300 MHz, CDC13) ppm 1,08 (s, 9H), 1,78 (s, 3H), 2,17-2,28 (m, 2H), 2,46 (dd, J=11,3, 4,8 Hz, 1H), 4,91 (d, J=9,4 Hz, 2H).

Etapa 3: 2-terț-Butil-4-metil-pent-4-en-1-amină

30

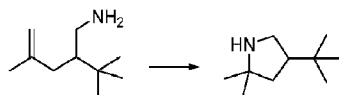


Hidru de litium aluminu (9,33 g, 245,8 mmol) a fost suspendată în dietil eter uscat (250 mL) la 0 °C. S-a adăugat 2-terț-butil-4-metil-pent-4-enitril (9,30 g, 61,49 mmol), și amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei peste noapte sub azot. Amestecul de reacție a fost răcit la 0 °C și stins cu apă (10 mL), NaOH 2 N (10 mL), și apă (30 mL). Amestecul a fost agitat la temperatura camerei timp de 30 minute, apoi s-a adăugat sulfat de magneziu, și agitarea s-a continuat timp de încă 30 minute. Masa de reacție a fost filtrată prin Celite, spălată cu dietil eter, și concentrată sub presiune redusă pentru a da 2-terț-butil-4-metil-pent-4-en-1-amină (10,70 g, conține 29% mol de solvent, randament 79%) ca lichid gălbui.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) ppm 0,91 (s, 9H), 1,22-1,45 (m, 3H), 1,76 (s, 3H), 1,87-1,98 (m, 1H), 2,20 (d, $J=14,1$ Hz, 1H), 2,56 (dd, $J=13,1$, 6,0 Hz, 1H), 2,83 (dd, $J=13,1$, 3,7 Hz, 1H), 4,73-4,82 (m, 2H).

Etapa 4: 4-terț-Butil-2,2-dimetil-pirolidină

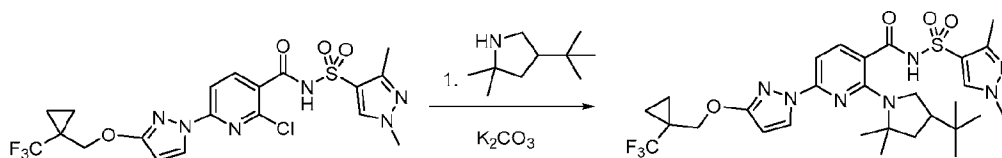
5



Tetrafluoroborat de bis(1,5-ciclooctadien)rodiu(I) (262 mg, 0,64 mmol) și DavePhos (305 mg, 0,77 mmol) s-au adăugat la o soluție de 2-terț-butil-4-metil-pent-4-en-1-amină (2,00 g, 12,88 mmol) în dioxan (12 mL) într-o eprubetă etanșată, și amestecul de reacție a fost barbotat cu azot timp de 5 minute. Tubul a fost etanșat și încălzit la 120 °C timp de 48 ore. O dată răcit la temperatura camerei, s-a adăugat HCl 4 M în dioxan (6,0 mL), și amestecul de reacție a fost concentrat sub presiune redusă. Reziduul a fost diluat cu HCl 1N (20 mL) și spălat utilizând dietil eter (3x20 mL). Stratul apos a fost alcalinizat la pH 8-9 cu NaOH 2 N, și soluția rezultată a fost extrasă cu dietil eter (3x20 mL). Straturile organice au fost combinate, uscate pe sulfat de sodiu, și concentrate sub presiune redusă pentru a da 4-terț-butil-2,2-dimetil-pirolidină (1,18 g, randament 59%) ca lichid maro.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) ppm 0,85 (s, 9H), 1,14 (s, 3H), 1,19 (s, 3H), 1,24-1,32 (m, 1H), 1,50-1,63 (m, 2H), 2,00-2,12 (m, 1H), 2,73 (dd, $J=11,3$, 8,7 Hz, 1H), 2,97 (dd, $J=11,4$, 8,2 Hz, 1H).

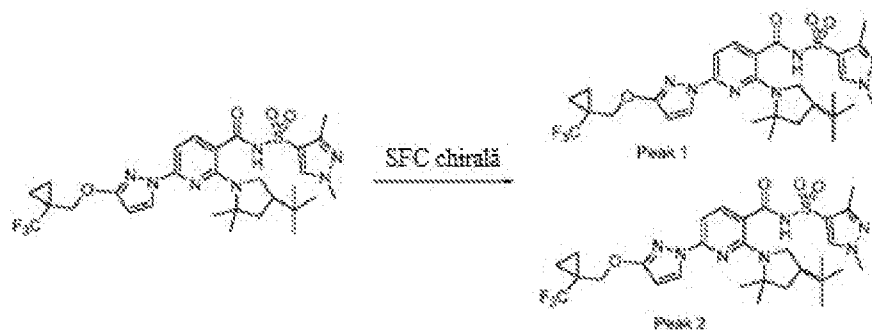
Etapa 5: 2-(4-terț-butil-2,2-dimetil-pirolidin-1-il)-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 40)



La o soluție de 2-cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (300,6 mg, 0,5793 mmol) și 4-terț-butil-2,2-dimetil-pirolidină (272,8 mg, 1,757 mmol) în DMSO anhidru (6,012 mL) s-a adăugat fluorură de cesiu (441,2 mg, 2,904 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 130 °C timp de 16 h într-o baie cu ulei. Amestecul de reacție a fost filtrat și purificat prin HPLC cu fază inversă-MS utilizând un gradient de acetonitril 50-99% în HCl 5 mM pentru a da 2-(4-terț-butil-2,2-dimetil-pirolidin-1-il)-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă racemică (78 mg, 20%) ca solid alb. ESI-MS m/z calc. 637,2658, găsit 638,6 ($M+1$)+; Timp de retenție: 2,32 minute.

^1H RMN (400 MHz, Cloroform- d) δ 8,37 - 8,31 (m, 1H), 8,24 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,54 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 5,99 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 4,39 (s, 2H), 3,86 (s, 3H), 3,35 (dt, $J = 19,1$, 9,8 Hz, 2H), 2,46 (s, 3H), 2,44 - 2,37 (m, 1H), 1,94 - 1,86 (m, 2H), 1,36 (s, 3H), 1,32 (s, 3H), 1,20 - 1,12 (m, 2H), 0,99 - 0,94 (m, 2H), 0,97 (s, 9H).

Etapa 6: Doi enantiomeri ai 2-(4-terț-butil-2,2-dimetil-pirolidin-1-il)-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidei



2-(4-terț-Butil-2,2-dimetil-pirolidin-1-il)-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă racemică (78 mg, 0,122 mmol) a fost purificată prin SFC chirală utilizând o coloană ChiralPak AD-3 (250x10 mm, 5 μm), eluând cu metanol 15%, CO_2 85%, la o presiune de 100 bar, și debit de 10 mL/min.

Peak 1: enantiomer pur 1 al 2-(4-*terf*-butil-2,2-dimetil-pirolidin-1-il)-*N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidei (24,9 mg, 7%) cu puritate 100% și ee 98% (Compusul 53). ESI-MS *m/z* calc. 637,2658, găsit 638,6 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 1,19 minute.

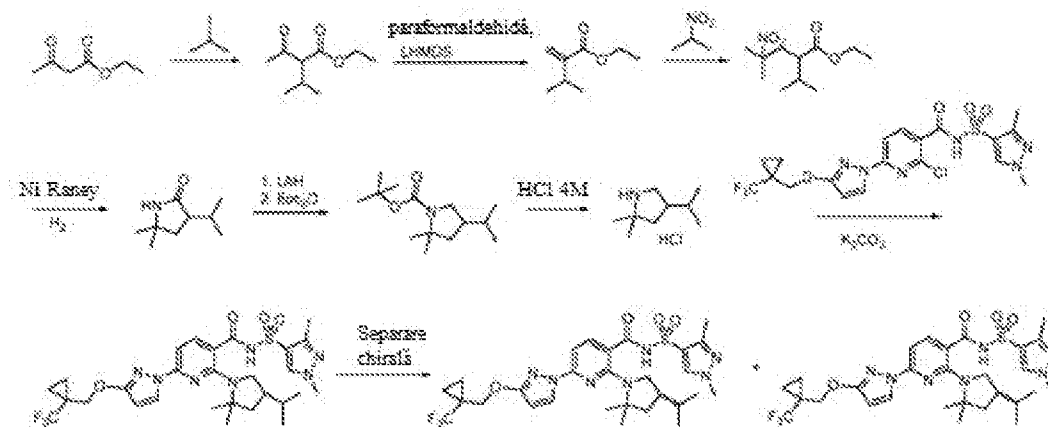
- 5 ¹H RMN (400 MHz, Cloroform-*d*) δ 13,68 (s, 1H), 8,32 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 8,23 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,53 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 5,98 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 4,39 (s, 2H), 3,86 (s, 3H), 3,35 (t, *J* = 11,1 Hz, 2H), 2,46 (s, 3H), 2,39 (t, *J* = 9,1 Hz, 1H), 1,96 - 1,84 (m, 2H), 1,36 (s, 3H), 1,33 (s, 3H), 1,17 - 1,12 (m, 2H), 0,98 - 0,90 (m, 2H), 0,96 (s, 9H).

- 10 Peak 2: enantiomer pur 2 al 2-(4-*terf*-butil-2,2-dimetil-pirolidin-1-il)-*N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidei (25,0 mg) cu puritate 100% și ee 98% (Compusul 54). ESI-MS *m/z* calc. 637,2658, găsit 638,6 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 1,18 minute.

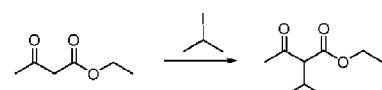
- 15 ¹H RMN (400 MHz, Cloroform-*d*) δ 13,69 (s, 1H), 8,32 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 8,24 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,53 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 5,99 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 4,40 (s, 2H), 3,86 (s, 3H), 3,43 - 3,27 (m, 2H), 2,46 (s, 3H), 2,44 - 2,32 (m, 1H), 1,94 - 1,87 (m, 2H), 1,36 (s, 3H), 1,33 (s, 3H), 1,18 - 1,13 (m, 2H), 0,99 - 0,94 (m, 2H), 0,97 (s, 9H).

Sinteză de doi enantiomeri ai *N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-(4-izopropil-2,2-dimetil-pirolidin-1-il)-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidei

20



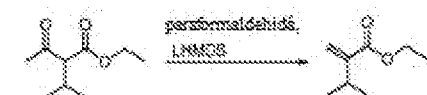
Etapă 1: Ester etilic al acidului 2-izopropil-3-oxo-butiric



- 25 La *terf*-butoxid de potasiu (61,7 g, 550 mmol) în tetrahidrofuran (1 L) într-o baie cu gheață s-a adăugat în picătură acetoacetat de etil (64 mL, 500 mmol). La această soluție s-a adăugat 2-iodopropan (55 mL, 750 mmol). După încălzire peste noapte la 70 °C, masa de reacție a fost răcită, și s-a adăugat 2-iodopropan (18 mL, 250 mmol), și masa de reacție a fost încălzită încă 24 ore la 70 °C. La masa de reacție s-au adăugat apă (250 mL) și bicarbonat de sodiu apos saturat (250 mL), și aceasta a fost extrasă cu dietil eter (3 x 250 mL). Produsul brut a fost concentrat sub vid și purificat prin cromatografie pe coloană cu silicagel utilizând hexani-acetat de etil 0-7% pentru a da ester etilic al acidului 2-izopropil-3-oxo-butiric (55,11 g, 64%) ca ulei galben. ESI-MS *m/z* calc. 172,2, găsit 173,0 (*M*1). Timp de retenție: 2,99 minute.

- 30 ¹H RMN (250 MHz, CDC13) (ppm): 0,87 - 1,07 (m, 6 H) 1,27 (t, *J*=7,14 Hz, 3 H) 2,23 (s, 3 H) 2,32 - 2,52 (m, 1 H) 3,18 (d, *J*=9,45 Hz, 1 H) 4,19 (q, *J*=7,07 Hz, 2 H).

- 35 **Etapă 2: Ester etilic al acidului 3-metil-2-metilen-butiric**

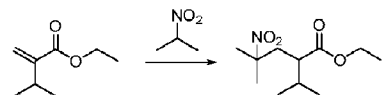


- 40 O soluție de ester etilic al acidului 2-izopropil-3-oxo-butiric (53,77 g, 312,2 mmol) în tetrahidrofuran (1,07 L) a fost răcită la -78 °C. S-a adăugat în picătură soluție de litiu bis(trimetilsilil)amidă 1,0 M în tetrahidrofuran (343,0 mL, 343,0 mmol), și baia de gheață uscată a fost îndepărtată timp de 30 minute. Masa de reacție a fost re-răcită la -78 °C, și s-a adăugat într-o

porție paraformaldehidă (43 g, 1,4 mol). După 30 minute baia de gheață uscată a fost îndepărtată și masa de reacție a fost lăsată să se încălzească la temperatura camerei peste noapte. Masa de reacție a fost apoi filtrată prin Celite. Filtratul a fost concentrat in vid, și materialul brut a fost purificat prin distilare, colectând fracțiunea care fierbe la 72-75 °C la 67 torr pentru a da ester etilic al acidului 3-metil-2-metilen-butiric (19,63 g, 40%) ca ulei limpede.

¹H RMN (250MHz, CDC13) (ppm): 1,09 (d, J=6,92 Hz, 6 H) 1,31 (t, J=7,14 Hz, 3 H) 2,75-2,90 (m, 1H) 4,22 (d, J=7,14 Hz, 2 H) 5,51 (d, J=1,21 Hz, 1 H) 6,12 (s, 1 H).

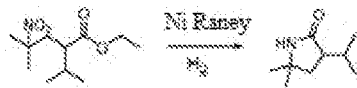
Etapă 3: Ester etilic al acidului 2-izopropil-4-metil-4-nitro-pentanoic



Ester etilic al acidului 3-metil-2-metilen-butiric (15,6 g, 109,7 mmol) și 2-nitropropan (2,2 mL, 24,2 mmol) s-au adăugat la acetonitril (250 mL). S-a adăugat în picătură 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-enă (3,6 mL, 24,2 mmol), și amestecul de reacție a fost agitat timp de 16 ore la temperatura camerei. Acetonitrilul a fost îndepărtat sub vid, și la reziduu s-a adăugat acid clorhidric 1 M (200 mL). Produsul a fost extras cu dietil eter (3 x 150 mL) și concentrat. Reziduu brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană cu silicagel utilizând hexani - dietil eter 0-15 % pentru a da ester etilic al acidului 2-izopropil-4-metil-4-nitro-pentanoic (13,4 g, 53%) ca ulei incolor.

¹H RMN (250 MHz, CDC13) (ppm): 0,83 - 0,97 (m, 6 H) 1,18 - 1,35 (m, 3 H) 1,54 (d, J=17,03 Hz, 6 H) 1,86 (d, J=13,21, 1 H) 2,06 - 2,22 (m, 2 H) 2,25 - 2,45 (m, 1 H) 4,07 - 4,21 (m, 2 H).

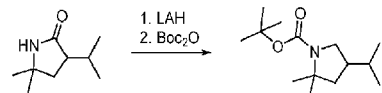
Etapă 4: 3-Izopropil-5,5-dimetil-pirolidin-2-onă



La o soluție de ester etilic al acidului 2-izopropil-4-metil-4-nitro-pentanoic (14,6 g, 63,2 mmol) în etanol (100 mL) s-a adăugat nichel Raney (~ 2 g, 34,0 mmol), și masa de reacție a fost încălzită sub atmosferă de hidrogen la 60 °C și 120 PSI timp de 24 ore. Apoi s-a adăugat nichel Raney suplimentar (~ 1 g, 17,0 mmol), și masa de reacție a fost încălzită la 60 °C și 120 PSI peste noapte timp de 24 ore. Masa de reacție a fost filtrată prin Celite, și lichidul mamă a fost concentrat pentru a da un amestec de acid 4-amino-2-izopropil-4-metil-pentanoic și 3-izopropil-5,5-dimetil-pirolidin-2-onă. Amestecul a fost dizolvat în toluen (125 mL) și încălzit la 110 °C timp de 16 ore. Solventul a fost îndepărtat, și reziduu a fost purificat prin cromatografie pe coloană cu silicagel utilizând diclorometan - metanol 0-10% pentru a da 3-izopropil-5,5-dimetil-pirolidin-2-onă (6,18 g, 63%) ca solid de culoare cafenie. ESI-MS m/z calc. 155,0, găsit 155,3 [M+1]. Timp de retenție: 2,14 minute.

¹H RMN (250 MHz, CDC13) (ppm): 0,87 (d, J=6,81 Hz, 3 H) 0,97 (d, J=6,92 Hz, 3 H) 1,27 (d, J=10,66 Hz, 6 H) 1,64 - 1,76 (m, 1 H) 1,84 - 1,96 (m, 1 H) 2,13 - 2,30 (m, 1 H) 2,57 (ddd, J=10,57, 8,98, 4,61 Hz, 1 H) 5,59 (br. s., 1 H).

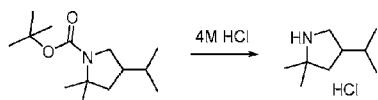
Etapă 5: Ester *terț*-butilic al acidului 4-izopropil-2,2-dimetil-pirolidin-1-carboxilic



La o suspensie de hidruură de litiu aluminii (1,00 g, 26,28 mmol) în tetrahidrofuran (15 mL) la temperatura camerei s-a adăugat în picătură o soluție de (3-izopropil-5,5-dimetil-pirolidin-2-onă (1,02 g, 6,57 mmol) în tetrahidrofuran (7 mL), și masa de reacție a fost încălzită la 60 °C timp de 3 zile. Masa de reacție a fost apoi răcită într-o baie de gheață, și s-a adăugat 2-metiltetrahidrofuran (20 mL) urmat de sare Rochelle apoasă (50 mL). Masa de reacție a fost apoi extrasă cu 2-metiltetrahidrofuran (4 x 50 mL), uscată pe sulfat de sodiu, și concentrată pentru a da 4-izopropil-2,2-dimetil-pirolidină brută. Materialul brut a fost dizolvat în diclorometan (26 mL) și tratat cu di-*terț*-butil dicarbonat (1,72 g, 7,88 mmol) și N,N-diizopropiletilamină (1,4 mL, 7,88 mmol) la 0 °C și lăsat să se încălzească timp de 48 ore. Masa de reacție a fost apoi turnată în bicarbonat de sodiu apos 5% (40 mL) și extrasă cu diclorometan (2 x 50 mL). Stratul organic a fost uscat pe sulfat de sodiu și purificat prin cromatografie pe coloană cu silicagel utilizând hexani-dietil eter 0-30% pentru a da ester *terț*-butilic al acidului 4-izopropil-2,2-dimetil-pirolidin-1-

carboxilic (1,23 g, 76%) ca ulei galben. ESI-MS m/z calc. 241,0, găsit 242,0 [M+1]. Timp de retenție: 4,01 minute.

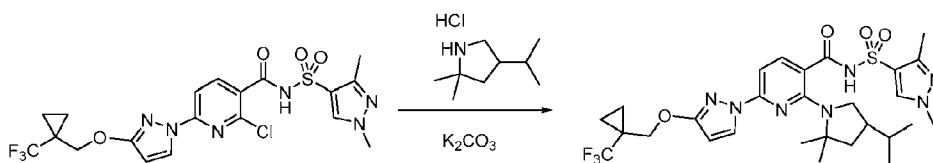
Etapa 6: Clorhidrat de 4-izopropil-2,2-dimetil-pirolidină



5 La ester *tert*-butilic al acidului 4-izopropil-2,2-dimetil-pirolidin-1-carboxilic (1,23 g, 5,1 mmol) s-a adăugat diclorometan (15 mL) urmat de acid clorhidric 4 M in 1,4-dioxan (5 mL, 20,0 mmol). Masa de reacție a fost agitată peste noapte la temperatura camerei și concentrată. Reziduul a fost sonicat cu hexani (30 mL) și filtrat pentru a da clorhidrat de 4-izopropil-2,2-dimetil-pirolidină (669 mg, 74%) ca solid cristalin alb. ESI-MS m/z calc. 141,0, găsit 140,6 [M+1]. Timp de retenție: 1,53 minute.

¹H RMN (250 MHz, CDC13) (ppm): 0,87 (dd, J=6,43, 3,46 Hz, 6 H) 1,30 (s, 3 H) 1,40 (s, 3 H) 1,42 - 1,59 (m, 2 H) 1,91 (dd, J=12,69, 7,53 Hz, 1 H) 1,99 - 2,21 (m, 1 H) 2,88 (t, J=9,72 Hz, 1 H).

10 **Etapa 7: N-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-(4-izopropil-2,2-dimetil-pirolidin-1-il)-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 41)**

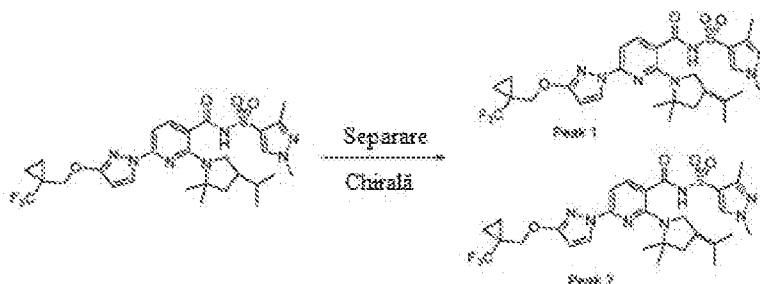


20 La o soluție de 2-cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (300 mg, 0,5781 mmol) și 4-izopropil-2,2-dimetil-pirolidină (250,0 mg, 1,770 mmol) în DMSO anhidru (5,0 mL) s-a adăugat fluorură de cesiu (450,0 mg, 2,962 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 130 °C timp de 16 h într-o baie cu ulei. Amestecul de reacție a fost turnat pe gheață zdrobită. Solidul maro rezultat a fost colectat prin filtrare și uscat. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană cu silicagel utilizand EtOAc-hexani 10-100 % pentru a da N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-(4-izopropil-2,2-dimetil-pirolidin-1-il)-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă racemică (90 mg, 25%) ca solid amorf alb. ESI-MS m/z calc. 623,2502, găsit 624,5 (M+1)+; Timp de retenție: 2,25 minute.

25 ¹H RMN (400 MHz, Cloroform-d) δ 8,32 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 8,22 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,54 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 5,99 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 4,39 (s, 2H), 3,86 (s, 3H), 3,46 (dd, J = 10,3, 8,5 Hz, 1H), 3,25 (dd, J = 10,4, 7,9 Hz, 1H), 2,46 (s, 3H), 2,16 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 2,11 - 2,03 (m, 1H), 1,78 (dd, J = 12,0, 10,1 Hz, 1H), 1,67 (dt, J = 9,5, 6,6 Hz, 1H), 1,39 (s, 3H), 1,31 (s, 3H), 1,20 - 1,11 (m, 2H), 0,98 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,96 - 0,94 (m, 2H), 0,92 (d, J = 6,6 Hz, 3H).

30 **Etapa 8: Doi enantiomeri ai N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-(4-izopropil-2,2-dimetil-pirolidin-1-il)-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidei**

35



40 N-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-(4-izopropil-2,2-dimetil-pirolidin-1-il)-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă racemică (90 mg, 0,144 mmol) a fost purificată prin SFC chirală utilizând o coloană ChiralPak AD-3 (250x10 mm, 5μm), eluand cu metanol 15%, CO₂ 85%, la o presiune de 100 bar, și debit de 10 mL/min.

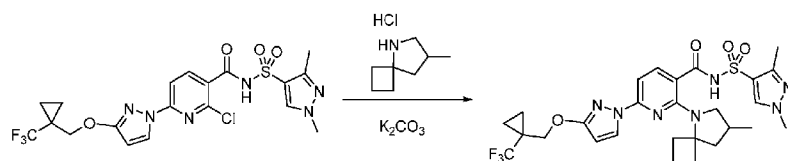
Peak 1: enantiomer pur 1 al N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-(4-izopropil-2,2-dimetil-pirolidin-1-il)-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidei (33,8 mg, 19%); (ee >98%) (Compusul 46). ESI-MS m/z calc. 623,2502, găsit 624,5 (M+1)+; Timp de retenție: 2,25 minute.

¹H RMN (400 MHz, Cloroform-d) δ 13,91 (s, 1H), 8,30 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 8,22 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,52 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 5,98 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 4,39 (d, J = 1,7 Hz, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,49 - 3,40 (m, 1H), 3,25 (dd, J = 10,4, 7,9 Hz, 1H), 2,46 (s, 3H), 2,16 (dt, J = 17,4, 8,7 Hz, 1H), 2,06 (dd, J = 12,0, 7,6 Hz, 1H), 1,77 (dd, J = 12,0, 10,1 Hz, 1H), 1,71 - 1,57 (m, 1H), 1,39 (s, 3H), 1,31 (s, 3H), 1,19 - 1,12 (m, 2H), 0,98 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,96 - 0,94 (m, 2H), 0,92 (d, J = 6,5 Hz, 3H).

Peak 2: enantiomer pur 2 al N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-(4-izopropil-2,2-dimetilpirolidin-1-il)-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (34,2 mg, 19%); (ee > 98%) (Compusul 47). ESI-MS m/z calc. 623,2502, găsit 624,5 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,25 minute.

¹H RMN (400 MHz, Cloroform-d) δ 13,75 (s, 1H), 8,23 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 8,20 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,45 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 5,96 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 4,39 (m, 2H), 3,84 (s, 3H), 3,40 (dd, J = 10,3, 8,3 Hz, 1H), 3,24 (dd, J = 10,4, 8,0 Hz, 1H), 2,45 (s, 3H), 2,18 - 2,01 (m, 2H), 1,75 (dd, J = 11,9, 10,2 Hz, 1H), 1,64 (dp, J = 9,1, 6,6 Hz, 1H), 1,38 (s, 3H), 1,32 (s, 3H), 1,18 - 1,12 (m, 2H), 0,97 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,96 - 0,92 (m, 2H), 0,90 (d, J = 6,5 Hz, 3H).

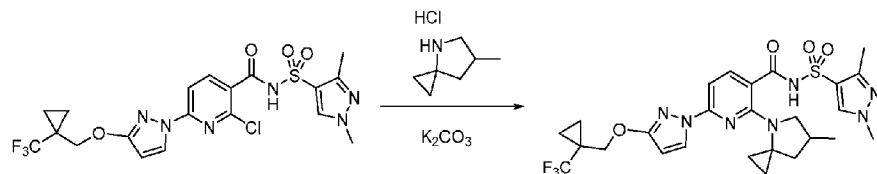
Sinteză de N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-(7-metil-5-azaspiro[3,4]octan-5-il)-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 43)



La o soluție de 2-cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (50,0 mg, 0,09636 mmol) și 7-metil-5-azaspiro[3,4]octan (sare clorhidrat) (50,0 mg, 0,3093 mmol) în DMSO anhidru (1,000 mL) s-a adăugat fluorură de cesiu (75,0 mg, 0,4937 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 130 °C timp de 16 h într-o baie cu ulei. Amestecul de reacție a fost filtrat și purificat utilizând o metodă HPLC cu fază inversă-MS cu o rulare cu gradient dublu de la 50-99% acetonitril în HCl 5 mM pentru a da N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-(7-metil-5-azaspiro[3,4]octan-5-il)-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (8,6 mg, 15%). ESI-MS m/z calc. 607,2189, găsit 608,5 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,18 minute.

¹H RMN (400 MHz, Cloroform-d) δ 8,45 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 8,27 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,63 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 5,99 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 4,40 (s, 2H), 3,86 (s, 3H), 3,63 - 3,54 (m, 1H), 2,97 (dd, J = 10,0, 6,7 Hz, 1H), 2,54 (q, J = 6,5, 5,2 Hz, 2H), 2,46 (s, 3H), 2,25 - 2,15 (m, 2H), 2,10 (t, J = 10,3 Hz, 1H), 2,03 - 1,95 (m, 1H), 1,91 (dd, J = 10,1, 5,5 Hz, 2H), 1,74 - 1,60 (m, 1H), 1,55 - 1,41 (m, 1H), 1,22 (d, J = 6,3 Hz, 3H), 1,19 - 1,12 (m, 2H), 1,02 - 0,90 (m, 2H).

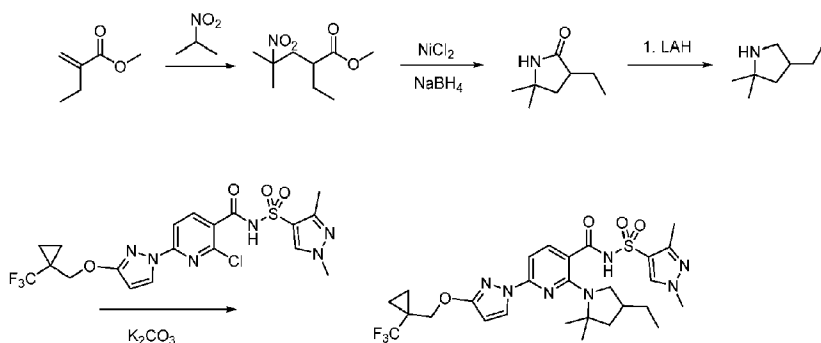
Sinteză de N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-(6-metil-4-azaspiro[2,4]heptan-4-il)-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 44)



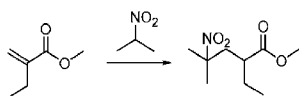
La o soluție de 2-cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (50,0 mg, 0,09636 mmol) și 6-metil-4-azaspiro[2,4]heptan (sare clorhidrat) (45,0 mg, 0,3048 mmol) în DMSO anhidru (1 mL) s-a adăugat fluorură de cesiu (75,0 mg, 0,4937 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 130 °C peste noapte într-o baie cu ulei. Amestecul de reacție a fost filtrat și purificat utilizând o metodă HPLC cu fază inversă-MS cu o rulare cu gradient dublu de la 50-99% acetonitril în HCl 5 mM pentru a da N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-(6-metil-4-azaspiro[2,4]heptan-4-il)-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (42,8 mg, 75%). ESI-MS m/z calc. 593,2032, găsit 594,6 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,17 minute.

¹H RMN (400 MHz, Cloroform-d) δ 8,40 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 8,29 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,59 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,00 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 4,39 (s, 2H), 3,86 (s, 3H), 3,64 (dd, J = 10,5, 7,9 Hz, 1H), 3,14 (dd, J = 10,5, 7,1 Hz, 1H), 2,75 - 2,59 (m, 1H), 2,46 (s, 3H), 2,33 (dd, J = 12,2, 8,8 Hz, 1H), 1,77 (dd, J = 12,3, 6,4 Hz, 1H), 1,22 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,18 - 1,12 (m, 2H), 0,95 (tt, J = 5,6, 2,8 Hz, 2H), 0,72 - 0,54 (m, 4H).

Sintează de N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-(4-etil-2,2-dimetil-pirolidin-1-il)-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 49)



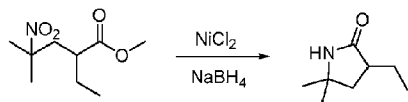
5 Etapa 1: 2-Etil-4-metil-4-nitro-pentanoat de metil



2-Nitropropan (1,20 mL, 13,36 mmol) a fost dizolvat în dioxan (10,0 mL). S-a adăugat o soluție apoasă de hidroxid de benzil(trimetil)amoniu (110,0 μ L de 40 %m/v, 0,2631 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 70 °C în timpul adăugării în picătură de 2-metilenbutanoat de metil (2,5 g, 21,90 mmol) în timp de 20 minute. Amestecul de reacție a fost apoi lăsat să se agite la 100 °C timp de 4,5 ore. Masa de reacție a fost stinsă cu adăugare de HCl apos (50,0 mL de 1 M, 50,00 mmol). Amestecul a fost diluat cu dietil eter (75 mL) și spălat cu apă (3 $\times$ 75 mL) și saramură (1 $\times$ 75 mL). Stratul organic a fost uscat pe sulfat de sodiu, filtrat și concentrat sub presiune redusă pentru a da un lichid galben. Produsul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană cu silicagel utilizând un gradient de EtOAc-hexani 5% până la 25% pentru a da 2-etil-4-metil-4-nitro-pentanoat de metil (1,6 g, 34%) ca ulei incolor.

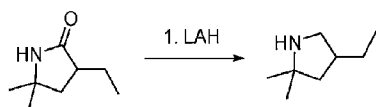
¹H RMN (400 MHz, Cloroform-d) δ 3,68 (s, 3H), 2,44 - 2,36 (m, 1H), 2,30 (tdd, J = 9,8, 6,9, 1,9 Hz, 1H), 2,10 (dd, J = 14,6, 2,0 Hz, 1H), 1,69 - 1,45 (m, 2H), 1,58 (s, 3H), 1,53 (s, 3H), 0,89 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

Etapa 2: 3-Etil-5,5-dimetil-pirolidin-2-onă



O soluție de 2-etil-4-metil-4-nitro-pentanoat de metil (1,56 g, 7,676 mmol) și hexahidrat de diclorură de nichel (366,4 mg, 1,541 mmol) în 1:4 apă (5 mL) și MeOH (20,0 mL) a fost răcită la 0 °C. La această soluție, s-a adăugat încet în porții borohidru de sodiu (730,8 mg, 19,32 mmol). După ce adăugarea a fost completă, amestecul de reacție a fost lăsat să se încălzească până la temperatura camerei și s-a agitat la temperatura camerei timp de 2 ore. Amestecul de reacție a fost răcit din nou, și s-a adăugat o soluție de carbonat de potasiu apos (1 M, 25 mL). Culoarea s-a modificat de la negru la gri până la verde. Amestecul a fost lăsat să se matureze timp de 3 ore, apoi s-a adăugat Celite. Solidul a fost îndepărtat prin filtrare printr-un dop de filtrare ambalat în Celite și spălat cu MeOH (3 $\times$ 100 mL). Filtratele și spălările combinate au fost concentrate pentru a îndepărta cea mai mare parte din MeOH. La concentratul apos s-a adăugat clorură de sodiu solidă și s-a extras cu dietil eter. Extractele organice combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de magneziu, și concentrate. Reziduul rezultat a fost purificat prin cromatografie pe coloană cu silicagel utilizând EtOAc-hexani 10% până la EtOAc 100% pentru a da 3-etil-5,5-dimetil-pirolidin-2-onă (608 mg, 14%) ca ulei incolor cu aproximativ puritate 59%. ESI-MS m/z calc. 141,11537, găsit 142,2 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,38 minute

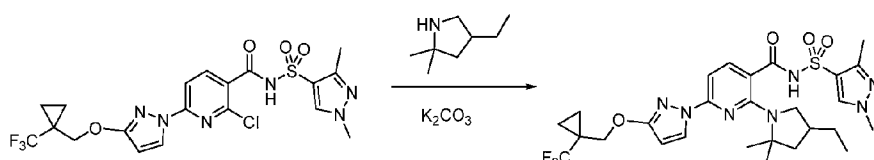
Etapa 3: 4-Etil-2,2-dimetil-pirolidină



La o soluție de 3-etil-5,5-dimetil-pirolidin-2-onă (302,6 mg, 2,143 mmol) în THF uscat (3 mL) s-a adăugat încet în picătură o soluție de hidru de litiu aluminiu (3,5 mL 2 M, 7,000 mmol)

la 0 °C sub atmosferă de azot. Amestecul a fost lăsat să se încălzească la temperatura ambiantă și agitat timp de 1 oră, apoi s-a încălzit la 60 °C timp de 14 h. Amestecul a fost răcit într-o baie de gheață și stins secvențial cu apă (150,0 μL, 8,326 mmol) (încet), urmată de NaOH (150,0 μL de 6 M, 0,9000 mmol), apoi apă (500 μL, 27,75 mmol) rezultând un solid granular în amestec. Solidul a fost separat prin filtrare utilizând Celite, și precipitatul a fost spălat cu eter. Filtratul a fost uscat în continuare cu sulfat de magneziu, filtrat, și concentrat fără vid pe evaporatorul rotativ pentru a da 4-etil-2,2-dimetil-pirolidină (130,9 mg, 24%). Amestecul a fost preluat direct în etapa următoare (E33068-152).

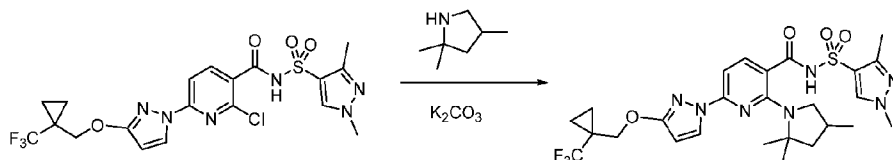
Etapa 4: N-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-(4-etil-2,2-dimetil-pirolidin-1-il)-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă



La o soluție de 2-cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (175,4 mg, 0,3380 mmol) și 4-etil-2,2-dimetil-pirolidină (130,9 mg, 1,029 mmol) în DMSO anhidru (2 mL) s-a adăugat fluorură de cesiu (267,2 mg, 1,759 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 130 °C timp de 16 h într-o baie cu ulei. Amestecul de reacție a fost filtrat și purificat utilizând o metodă HPLC cu fază inversă- MS ruland cu un gradient dublu de la 50-99% acetonitril în HCl 5 mM pentru a da N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-(4-etil-2,2-dimetil-pirolidin-1-il)-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (4,5 mg, 2%). ESI-MS m/z calc. 609,2345, găsit 610,59 (M+1)+; Timp de retenție: 2,17 minute.

¹H RMN (400 MHz, Cloroform-d) δ 8,35 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 8,23 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,56 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 5,99 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 4,39 (s, 2H), 3,86 (s, 3H), 3,56 - 3,48 (m, 1H), 3,15 (dd, J = 10,4, 7,5 Hz, 1H), 2,47 (s, 3H), 2,39 (dt, J = 16,9, 8,3 Hz, 1H), 2,13 (dd, J = 12,3, 7,9 Hz, 1H), 1,72 (dd, J = 12,4, 9,5 Hz, 1H), 1,59 (p, J = 7,3 Hz, 2H), 1,36 (s, 3H), 1,30 (s, 3H), 1,18 - 1,13 (m, 2H), 0,99 - 0,94 (m, 5H).

Sinteză de N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-2-(2,2,4-trimetilpirolidin-1-il)piridin-3-carboxamidă (Compusul 42)

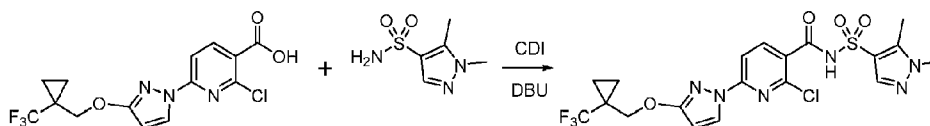


La o soluție de 2-cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (50,0 mg, 0,09636 mmol) și 2,2,5-trimetilpirolidină (35,0 mg, 0,3092 mmol) în DMSO anhidru (1,000 mL) s-a adăugat fluorură de cesiu (75,0 mg, 0,4937 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 130 °C timp de 16 h într-o baie cu ulei. Amestecul de reacție a fost filtrat și purificat utilizând o metodă HPLC cu fază inversă- MS ruland cu un gradient dublu de 50-99% acetonitril în HCl 5 mM pentru a da N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-2-(2,2,4-trimetilpirolidin-1-il)piridin-3-carboxamidă (5,8 mg, 10%). ESI-MS m/z calc. 595,2189, găsit 596,6 (M+1)+; Timp de retenție: 1,91 minute.

¹H RMN (400 MHz, Cloroform-d) δ 8,57 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 8,24 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,73 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,00 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,40 (s, 2H), 4,26 - 4,18 (m, 1H), 3,87 (s, 3H), 2,48 (s, 3H), 2,39 - 2,36 (m, 1H), 2,23 - 2,12 (m, 1H), 1,99 - 1,94 (m, 1H), 1,89 - 1,80 (m, 1H), 1,30 (s, 3H), 1,20 (d, J = 5,9 Hz, 3H), 1,18 - 1,14 (m, 2H), 1,10 (s, 3H), 0,99 - 0,93 (m, 2H).

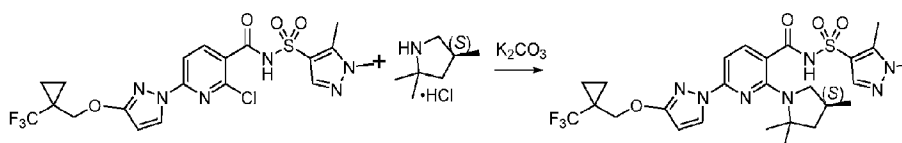
Sinteză de N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 9)

Etapa 1: 2-Cloro-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă



Acid 2-cloro-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3- carboxilic (200 mg, 0,5529 mmol) a fost dizolvat în THF (2 mL), și s-a adăugat CDI (aproximativ 107,6 mg, 0,6635 mmol). După agitare la temperatura camerei timp de 1,5 ore, s-a adăugat 1,5-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (aproximativ 125,9 mg, 0,7188 mmol) urmată de DBU (aproximativ 101,0 mg, 99,21 μL, 0,6635 mmol). Amestecul de reacție a fost lăsat să se agite peste noapte la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost diluat cu EtOAc (50 mL) și spălat cu acid citric apos 1 M (1 × 50 mL) și saramură (1 × 50 mL). Stratul organic a fost uscat pe sulfat de sodiu, filtrat și concentrat sub presiune redusă pentru a da 2-cloro-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (332 mg) ESI-MS *m/z* calc. 518,08, găsit 519,0 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,65 minute.

Etapa 2: **N-(1,5-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă**

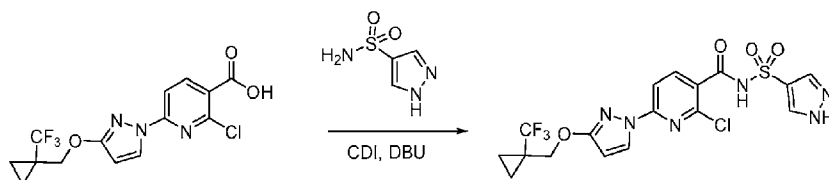


2-Cloro-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (286,8 mg, 0,5528 mmol) a fost dizolvată în DMSO (2 mL). S-a adăugat (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (aproximativ 248,1 mg, 1,658 mmol) urmată de carbonat de potasiu fin mărunțit (aproximativ 458,4 mg, 3,317 mmol). Amestecul de reacție a fost lăsat să se agite la 130 °C peste noapte. După răcire la temperatura camerei, s-a adăugat EtOAc (50 mL). Amestecul a fost spălat cu HCl 1N (1 × 50 mL) și saramură (1 × 50 mL). Stratul organic a fost uscat pe sulfat de sodiu, filtrat și concentrat sub presiune redusă pentru a da N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (72,7 mg) ESI-MS *m/z* calc. 595,22, găsit 596,4 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,07 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,28 (s, 1H), 8,21 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,73 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,91 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,14 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,43 - 4,31 (m, 2H), 3,78 (s, 3H), 2,57 (t, J = 10,4 Hz, 1H), 2,53 (s, 3H), 2,43 (dd, J = 10,2, 7,1 Hz, 1H), 2,25 - 2,10 (m, 1H), 1,87 (dd, J = 11,9, 5,6 Hz, 1H), 1,57 (s, 3H), 1,53 (s, 3H), 1,44 (t, J = 12,1 Hz, 1H), 1,09 (dt, J = 6,7, 2,0 Hz, 4H), 0,81 (d, J = 6,2 Hz, 3H).

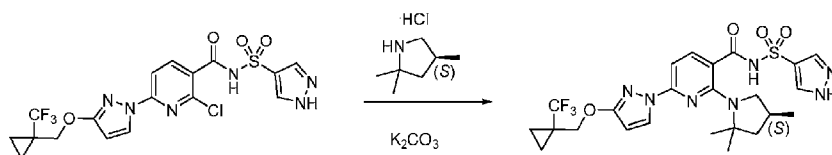
Sinteză de N-(1H-pirazol-4-ilsulfonil)-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 5)

Etapa 1: **2-Cloro-N-(1H-pirazol-4-ilsulfonil)-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă**



Acid 2-cloro-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (200 mg, 0,5529 mmol) și CDI (aproximativ 107,6 mg, 0,6635 mmol) s-au combinat în THF (1,200 mL) și s-au agitat la temperatura camerei timp de 2 ore. S-a adăugat 1H-pirazol-4-sulfonamidă (aproximativ 105,8 mg, 0,7188 mmol) urmată de DBU (aproximativ 101,0 mg, 99,21 μL, 0,6635 mmol), și masa de reacție a fost agitată timp de încă 16 h la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost spălat în continuare cu acid citric 1 M și apă, și extras cu 3x 20 mL acetat de etil. Organicile combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, concentrate, apoi purificate prin cromatografie pe silicagel utilizând un gradient de metanol 0-10% în diclorometan pentru a da un solid alb. 2-Cloro-N-(1H-pirazol-4-ilsulfonil)-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (190 mg, 70%) ESI-MS *m/z* calc. 490,0438, găsit 491,1 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,61 minute.

Etapa 2: N-(1H-Pirazol-4-ilsulfonil)-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă

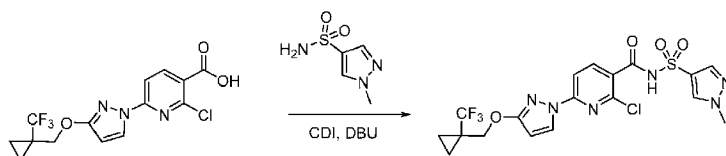


5 2-Cloro-N-(1H-pirazol-4-ilsulfonil)-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (115 mg, 0,2343 mmol), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (105 mg, 0,7016 mmol), și carbonat de potasiu (194 mg, 1,404 mmol) s-au combinat în DMSO (575,0 μ L) și s-au încălzit la 130 °C timp de 16 h. Masa de reacție a fost răcită la temperatura camerei, și diluată cu 15 mL apă, 15 mL acid citric 1 M, și 30 mL acetat de etil. Stratul apos și
10 straturile organice au fost separate, și stratul apos a fost extras suplimentar de două ori cu 30 mL acetat de etil. Organicele au fost combinate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Solidul rezultat a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluând cu un gradient de metanol 0-10% în diclorometan pentru a da un solid alb: N-(1H-pirazol-4-ilsulfonil)-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (100 mg, 75%) ESI-MS m/z calc. 567,18756, găsit 568,2 (M+1)⁺; Timp de retenție: 1,84 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 13,71 (s, 1H), 12,30 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 8,21 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,73 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,14 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 4,47 - 4,26 (m, 2H), 2,60 (t, J = 10,4 Hz, 1H), 2,43 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 2,15 (dd, J = 12,5, 6,6 Hz, 1H), 1,88 (dt, J = 11,6, 6,3 Hz, 1H), 1,55 (d, J = 17,6 Hz, 6H), 1,42 (t, J = 12,4 Hz, 1H), 1,14 - 1,05 (m, 4H), 0,79 (d, J = 6,3 Hz, 3H).

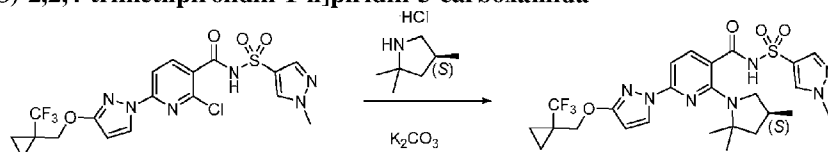
Sinteză de N-(1-metilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 6)

25 **Etapa 1:** 2-Cloro-N-(1-metilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă



Acid 2-cloro-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (200 mg, 0,5529 mmol) și CDI (aproximativ 107,6 mg, 0,6635 mmol) s-au combinat în THF (1,200 mL) și s-au agitat la temperatura camerei timp de 2 ore. S-a adăugat 1-metilpirazol-4-sulfonamidă (aproximativ 115,9 mg, 0,7188 mmol) urmată de DBU (aproximativ 101,0 mg, 99,21 μ L, 0,6635 mmol), și masa de reacție a fost agitată timp de încă 16 h la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost diluat cu acid citric 1 M și apă, și extras 3x 20 mL acetat de etil. Organicele combinate au fost spălate cu saramură, apoi uscate pe sulfat de sodiu, concentrate, și
35 purificate prin cromatografie pe silicagel eluând cu un gradient metanol/diclorometan 0-10% pentru a da un solid alb. 2-Cloro-N-(1-metilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (227 mg, 81%) ESI-MS m/z calc. 504,05945, găsit 505,1 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,64 minute.

40 **Etapa 2: N-(1-Metilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă**



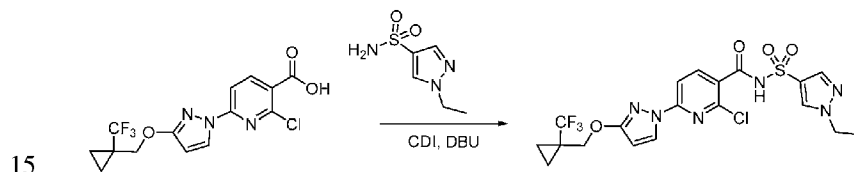
2-Cloro-N-(1-metilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (115 mg, 0,2278 mmol), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (102 mg, 0,6815 mmol), și carbonat de potasiu (189 mg, 1,368 mmol) au fost combinate în DMSO (575,0 μ L) și încălzite la 130 °C timp de 16 h. Masa de reacție a fost răcită la temperatura camerei și diluată cu 15 mL apă, 15 mL acid citric 1 M, și 30 mL acetat de etil. Stratul apos și cel organic au fost separate, și stratul apos a fost extras suplimentar de două ori cu 30 mL acetat de etil. Organicele au fost combinate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Solidul rezultat a fost purificat suplimentar prin

cromatografie pe silicagel eluand cu un gradient de metanol 0-10% in diclorometan pentru a da N-(1-metilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (88 mg, 66%) ESI-MS m/z calc. 581,2032, găsit 582,3 (M+1)+; Timp de retenție: 1,95 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 12,35 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,21 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,73 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,15 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 4,43 - 4,31 (m, 2H), 3,90 (s, 3H), 2,64 (t, J = 10,4 Hz, 1H), 2,48 - 2,40 (m, 1H), 2,17 (dp, J = 18,4, 6,3 Hz, 1H), 1,88 (dd, J = 11,8, 5,6 Hz, 1H), 1,55 (d, J = 17,0 Hz, 6H), 1,44 (t, J = 12,1 Hz, 1H), 1,14 - 1,04 (m, 4H), 0,80 (d, J = 6,2 Hz, 3H).

10 Sinteză de N-(1-etilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 7)

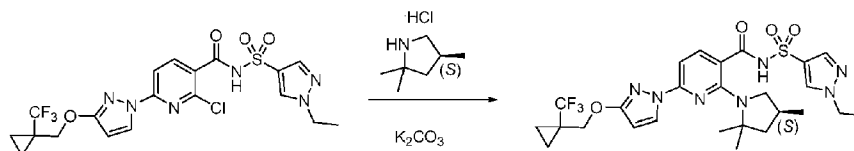
Etapă 1: 2-Cloro-N-(1-etilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă



Acid 2-cloro-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3- carboxilic (200 mg, 0,5529 mmol) și CDI (aproximativ 107,6 mg, 0,6635 mmol) s-au combinat in THF (1,200 mL) și s-au agitat la temperatura camerei timp de 2 ore. S-a adăugat 1-etilpirazol-4-sulfonamidă (aproximativ 125,9 mg, 0,7188 mmol) urmată de DBU (aproximativ 101,0 mg, 99,21 μL, 0,6635 mmol), și masa de reacție a fost agitată timp de încă 6 h la temperatura camerei. S-a adăugat o soluție de acid citric 1 M (1 mL) și masa de reacție a fost agitată timp de 20 min. Amestecul de reacție a fost diluat cu acid citric 1 M și apă, și extras 3x 20 mL cu acetat de etil. Organicele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, concentrate, apoi purificate prin cromatografie pe silicagel utilizand un gradient de metanol 0-10% in diclorometan pentru a da un solid alb. 2-Cloro-N-(1-etilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (250 mg, 87%) ESI-MS m/z calc. 518,0751, găsit 519,0 (M+1)+; Timp de retenție: 0,67 minute.

25 Etapa 2: N-(1-Etilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă

30

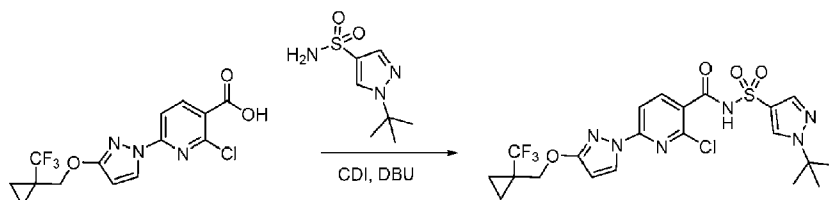


2-Cloro-N-(1-etilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (115 mg, 0,2216 mmol), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (100 mg, 0,6682 mmol), și carbonat de potasiu (184 mg, 1,331 mmol) s-au combinat in DMSO (570 μL) și s-au încălzit la 130 °C timp de 16 h. Masa de reacție a fost răcită la temperatura camerei, și diluată cu 15 mL apă, 15 mL acid citric 1 M, și 30 mL acetat de etil. Stratul apos și cel organic au fost separate, și stratul apos a fost extras suplimentar de două ori cu 30 mL acetat de etil. Organicele au fost combinate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Materialul rezultat a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluand cu metanol 0-10% in diclorometan pentru a da un solid alb. N-(1-etilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (110 mg, 83%) ESI-MS m/z calc. 595,2189, găsit 596,2 (M+1)+; Timp de retenție: 2,03 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 12,34 (s, 1H), 8,53 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 8,21 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,91 (d, J = 0,7 Hz, 1H), 7,74 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,15 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,48 - 4,31 (m, 2H), 4,20 (qd, J = 7,3, 5,0 Hz, 2H), 2,66 (t, J = 10,4 Hz, 1H), 2,47 (s, 1H), 2,17 (dp, J = 18,3, 6,4 Hz, 1H), 1,92 - 1,83 (m, 1H), 1,55 (d, J = 17,5 Hz, 6H), 1,45 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 1,39 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 1,09 (dt, J = 5,2, 1,6 Hz, 4H), 0,80 (d, J = 6,3 Hz, 3H).

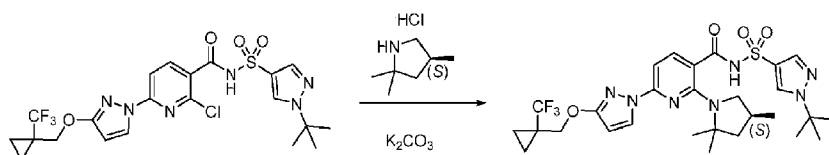
50 Sinteză de N-(1-terț-butilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 8)

Etapa 1: N-(1-*tert*-Butilpirazol-4-il)sulfonil-2-cloro-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă



- 5 Acid 2-cloro-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3- carboxilic (200 mg, 0,5529 mmol) și CDI (aproximativ 107,6 mg, 0,6635 mmol) s-au combinat in THF (1,200 mL) și s-au agitat la temperatura camerei timp de 2 ore. S-a adăugat 1-*tert*-butilpirazol-4-sulfonamidă (aproximativ 146,1 mg, 0,7188 mmol) urmată de DBU (aproximativ 101,0 mg, 99,21 μL, 0,6635 mmol), și masa de reacție a fost agitată timp de încă 6 h la temperatura camerei. S-a adăugat o soluție de acid citric 1 M (1 mL), și masa de reacție a fost agitată timp de 20 min. Masa de reacție a fost diluată cu acid citric 1 M și apă, și extrasă cu 3x 20 mL acetat de etil. Organicile combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, concentrate, și purificate prin cromatografie pe silicagel utilizand un gradient de metanol 0-10% in diclorometan pentru a da un solid alb.
- 10 N-(1-*tert*-Butilpirazol-4-il)sulfonil-2-cloro-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (190 mg, 63%) ESI-MS m/z calc. 546,1064, găsit 547,1 (M+1)+; Timp de retenție: 0,73 minute.

Etapa 2: N-(1-*tert*-Butilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă

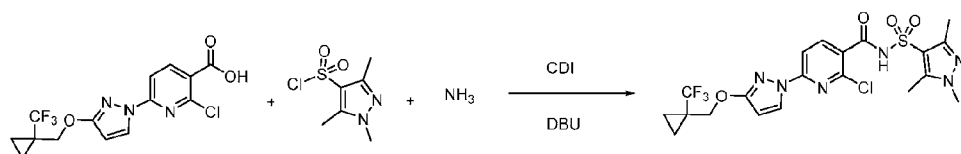


- 20 N-(1-*tert*-Butilpirazol-4-il)sulfonil-2-cloro-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (125 mg, 0,2285 mmol), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (103 mg, 0,6882 mmol), și carbonat de potasiu (190 mg, 1,375 mmol) s-au combinat în DMSO (600 μL) și s-au încălzit la 130 °C timp de 16 h. Masa de reacție a fost răcită la temperatura camerei, și diluată cu 15 mL apă, 15 mL acid citric 1 M, și 30 mL acetat de etil. Stratul apos și cel organic au fost separate, și stratul apos a fost extras încă de două ori cu 30 mL acetat de etil. Organicile au fost combinate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Solidul rezultat a fost purificat suplimentar prin cromatografie pe silicagel eluand cu metanol 0-10% in diclorometan pentru a da un solid alb.
- 25 N-(1-*tert*-Butilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (122 mg, 86%) ESI-MS m/z calc. 623,2502, găsit 624,3 (M+1)+; Timp de retenție: 2,19 minute.

- 30 ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 12,33 (s, 1H), 8,46 (s, 1H), 8,21 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 7,95 (s, 1H), 7,75 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,91 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,15 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,45 - 4,27 (m, 2H), 2,73 (t, J = 10,3 Hz, 1H), 2,58 (dd, J = 9,9, 7,1 Hz, 1H), 2,21 (dt, J = 11,3, 5,9 Hz, 1H), 1,89 (dd, J = 11,9, 5,5 Hz, 1H), 1,62 - 1,52 (m, 15H), 1,45 (t, J = 12,0 Hz, 1H), 1,13 - 1,06 (m, 4H), 0,83 (d, J = 6,5 Hz, 3H).

Sinteză de 6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-N-(1,3,5-trimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 16)

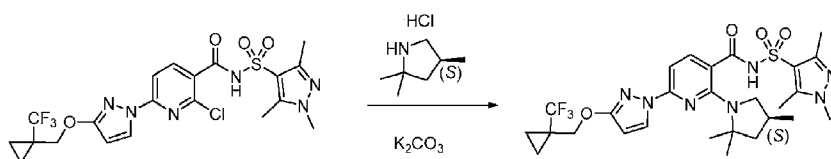
Step 1: 2-Cloro-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-N-(1,3,5-trimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă



- 45 Acid 2-cloro-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (100 mg, 0,2682 mmol) și CDI (52 mg, 0,3207 mmol) s-au combinat în THF (582,0 μL) și s-au agitat la temperatura camerei timp de 2 ore într-un flacon (flacon 1). Intre timp, clorura de 1,3,5-

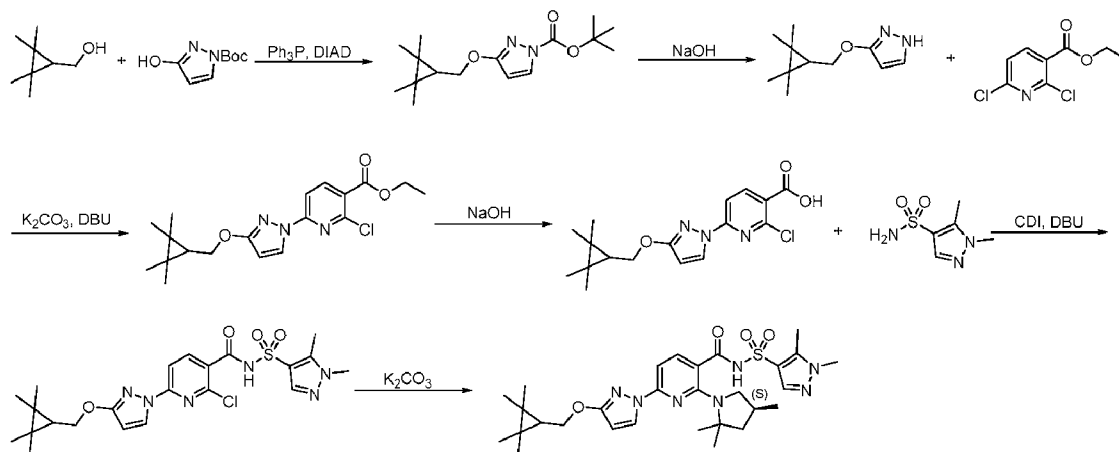
trimetilpirazol-4-sulfonil (56 mg, 0,2684 mmol) a fost combinată cu amoniac (250 μ L de 7 M, 1,750 mmol) (în metanol) într-un flacon separat (flacon 2). După agitare timp de încă 20 min, volatilele au fost îndepărtate din flaconul 2 prin evaporare, și la reziduul solid s-a adăugat 1 mL de diclorometan, și de asemenea a fost evaporat. DBU (54 μ L, 0,3611 mmol) a fost apoi adăugat la flaconul 2 și agitat la 60 °C timp de 5 minute (pentru a facilita îndepărtarea amoniului din puțina clorură de amoniu reziduală). După răcire la temperatura camerei, s-a adăugat 1 mL de THF și apoi s-a evaporat sub presiune redusă. Conținuturile flaconului 1 au fost apoi adăugate la flaconul 2 prin seringă, și amestecul de reacție a fost agitat timp de 4 ore la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost diluat cu 10 mL acetat de etil, și spălat cu 10 mL acid citric 1 M. Stratul apos a fost extras 2 x 10 mL acetat de etil, și organicele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și concentrate pentru a da un solid alb. Acest material a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară. 2-Cloro-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-N-(1,3,5-trimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă (140 mg, 98%) ESI-MS m/z calc. 532,09076, găsit 533,1 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,67 minute.

Etapa 2: 6-[3-[[1-(Trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-N-(1,3,5-trimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă

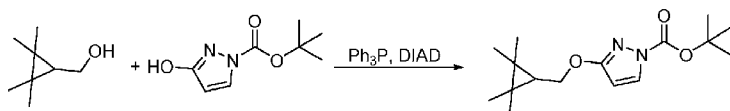


2-Cloro-6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-N-(1,3,5-trimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă (140 mg, 0,2627 mmol), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (118 mg, 0,7884 mmol), și carbonat de potasiu (219 mg, 1,585 mmol) s-au combinat în DMSO (700,0 μ L) și s-au încălzit la 130 °C timp de 16 h. Masa de reacție a fost răcită la temperatura camerei, și s-a adăugat 1 mL de apă. După 15 minute de agitare, conținuturile flaconului au fost lăsate să se decanteze, porțiunea lichidă a fost îndepărtată prin pipetă, și solidele rămase au fost dizolvate cu 20 mL acetat de etil, apoi spălate cu 15 mL acid citric 1 M. Stratul apos și cel organic au fost separate, și stratul apos a fost extras încă de două ori cu 15 mL acetat de etil. Organicele au fost combinate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și concentrate. Solidul rezultat a fost purificat suplimentar prin cromatografie pe silicagel eluand cu metanol 0-10% în diclorometan pentru a da un solid alb. 6-[3-[[1-(trifluorometil)ciclopropil]metoxi]pirazol-1-il]-N-(1,3,5-trimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (77 mg, 48%) ESI-MS m/z calc. 609,2345, găsit 610,3 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,07 minute.

Sinteză de N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 21)

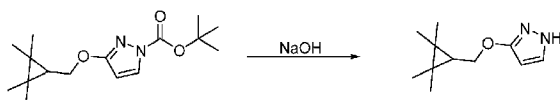


Etapa 1: 3-[(2,2,3,3-Tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil



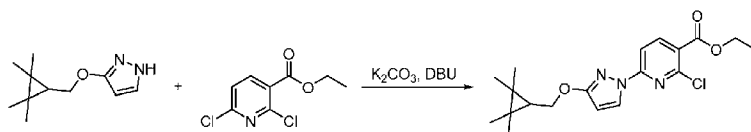
La o soluție degazată de trifenil fosfină (aproximativ 51,28 g, 195,5 mmol) în toluen (360,0 mL) sub azot gazos la 0 °C s-a adăugat în picătură DIAD (diizopropilazodicarboxilat) (aproximativ 39,53 g, 37,86 mL, 195,5 mmol). Amestecul a fost agitat la 0 °C timp de 30 min rezultând o suspensie albă. La amestec s-a adăugat o soluție de (2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metanol (aproximativ 29,84 g de 70 %g/g, 162,9 mmol) și 3-hidroxipirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (30 g, 162,9 mmol) în toluen (600,0 mL) în picătură la ~5 °C în 2 ore. Amestecul a fost lăsat să se încălzească la temperatura ambiantă și agitat timp de 18 ore. Amestecul a fost încălzit la 75 °C în total 6 ore și apoi lăsat să se răcească la temperatura ambiantă. Suspensia a fost diluată cu heptan (900,0 mL) și agitată la temperatura ambiantă timp de 3 ore. Suspensia a fost filtrată pe Celite, și precipitatul a fost spălat 3X cu 100 mL de heptan. Filtratul a fost concentrat in vid rezultand un ulei galben gros. Produsul brut cromatografiat pe o coloană de 750 grame cu silicagel încărcată cu diclorometan și eluând cu un gradient EtOAc/hexani 0-20%. Frațiunile colectate conținând produs au fost concentrate in vid rezultând un solid alburii. S-a obținut 3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (30,1 g, 63%). ¹H RMN (400 MHz, Cloroform-d) δ 7,82 (d, J = 3,0 Hz, 1H), 5,88 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 4,30 (d, J = 7,7 Hz, 2H), 1,61 (s, 9H), 1,12 (s, 6H), 1,04 (s, 6H), 0,70 (t, J = 7,8 Hz, 1H). ESI-MS m/z calc. 294,19434, găsit 295,0 (M+1)+; Timp de retenție: 2,19 minute

Etapă 2: 3-[(2,2,3,3-Tetrametilciclopropil)metoxi]-1H-pirazol



La o soluție de 3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (127 g, 431,4 mmol) în THF (317,5 mL) și alcool etilic (635,0 mL), s-a adăugat încet hidroxid de sodiu (aproximativ 431,4 mL de 2 M, 862,8 mmol) și s-a agitat la temperatura camerei peste noapte. Cea mai mare parte din solvent a fost îndepărtată sub presiune redusă. Reziduul apos a fost diluat cu apă (400 mL) și extras cu metil t-butil eter (762,0 mL). Faza organică a fost spălată de două ori cu saramură (2 x 300 mL), și fazele apoase au fost reextrase o dată cu metil t-butil eter (250 mL). Fazele organice combinate au fost uscate, filtrate și evaporate pentru a da 3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]-1H-pirazol (75 g, 89%) ca ulei vascos. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,78 (s, 1H), 7,48 (t, J = 2,1 Hz, 1H), 5,65 (s, 1H), 4,05 (d, J = 7,7 Hz, 2H), 1,08 (s, 6H), 1,00 (s, 6H), 0,67 (t, J = 7,7 Hz, 1H). ESI-MS m/z calc. 194,1419, găsit 195,0 (M+1)+; Timp de retenție: 1,43 minute.

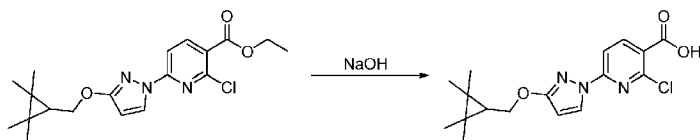
Etapă 3: 2-Cloro-6-[3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-il] piridin-3-carboxilat de etil



La 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de etil (16,8 g, 76,35 mmol) și 3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]-1H-pirazol (aproximativ 14,83 g, 76,35 mmol) în DMF (201,6 mL) s-a adăugat carbonat de potasiu (aproximativ 13,72 g, 99,26 mmol) urmat de DABCO (aproximativ 1,284 g, 11,45 mmol). Suspensia a fost agitată la temperatura ambiantă timp de 16 ore. Suspensia cremă fină a fost diluată încet cu apă (201,6 mL), iar suspensia groasă rezultată a fost agitată la temperatura ambiantă timp de 30 minute cu un agitator plasat la partea superioară. Precipitatul a fost colectat folosind o frită medie și spălat de 3 ori cu 25 mL de apă. Solidul a fost uscat in aer timp de 30 minute, și apoi uscat in vid utilizând un azeotrop cu EtOAc. S-a obținut 2-cloro-6-[3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de etil (28,8 g, 100%) ca un solid alburii. ESI-MS m/z calc. 377,1506, găsit 378,37 (M+1)+; Timp de retenție: 2,47 minute.

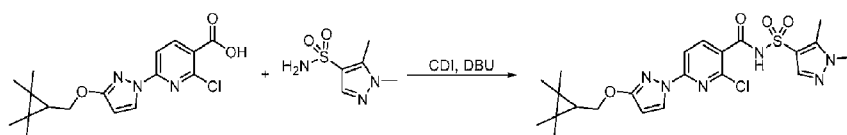
¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,43 (dd, J = 2,9, 0,9 Hz, 1H), 8,39 (dd, J = 8,5, 0,9 Hz, 1H), 7,76 (dd, J = 8,5, 0,9 Hz, 1H), 6,24 (dd, J = 2,9, 0,9 Hz, 1H), 4,34 (td, J = 7,5, 6,6 Hz, 2H), 4,28 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 1,34 (td, J = 7,1, 0,9 Hz, 3H), 1,11 (s, 6H), 1,05 (s, 6H), 0,75 (t, J = 7,8 Hz, 1H).

Etapă 4: Acid 2-cloro-6-[3-1(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic



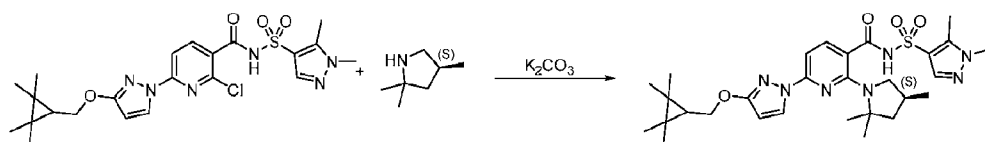
2-Cloro-6-[3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de etil (146 g, 386,4 mmol) în THF (730,0 mL) și EtOH (292,0 mL) a fost tratat cu NaOH (aproximativ 772,8 mL de 1 M, 772,8 mmol), și soluția a fost agitată la temperatura camerei timp de 5 ore. Cea mai mare parte din solvent a fost îndepărtată sub presiune redusă, și soluția a fost acidulată prin adăugare de acid citric (aproximativ 148,5 g, 89,19 mL, 772,8 mmol) sub răcire cu gheață. Suspensia groasă formată (pH 2-3) a fost agitată în baia cu gheață timp de 1 oră, filtrată, spălată cu multă apă și uscată într-un uscător dulap la vid la 45 °C sub un flux de azot, timp de două zile, pentru a da acid 2-cloro-6-[3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (128,2 g, 90%) ca un solid alburui. ESI-MS m/z calc. 349,11932, găsit 350,0 (M+1)+; Timp de retenție: 2,11 minute. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,64 (s, 1H), 8,69 - 8,22 (m, 2H), 7,73 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,22 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 4,28 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 1,08 (d, J = 24,9 Hz, 12H), 0,75 (t, J = 7,8 Hz, 1H).

Etapa 5: **2-Cloro-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă**



Acidul 2-cloro-6-[3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (4 g, 11,43 mmol) în THF (40,00 mL) a fost tratat cu CDI (aproximativ 2,225 g, 13,72 mmol), și soluția tulbure a fost agitată la temperatura camerei timp de 1 oră. Apoi s-a adăugat 1,5-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (aproximativ 2,225 g, 12,57 mmol), urmată de DBU (aproximativ 2,089 g, 2,052 mL, 13,72 mmol), și s-a format o suspensie groasă agitată la temperatura camerei timp de 4,5 ore. Suspensia a fost tratată cu acid citric rece (aproximativ 60,01 mL de 1 M, 60,01 mmol) (pH~2) pentru a da o emulsie, din care a început să precipite puțin solid. Cea mai mare parte de THF s-a îndepărtat sub presiune redusă, și solidul a fost colectat prin filtrare, spălat cu multă apă, și uscat. Solidul brut a fost absorbit pe silicagel și purificat prin cromatografie pe silicagel (220g) cu un gradient liniar de diclorometan până la metanol 10% în diclorometan. Frațiunile de produs au fost evaporate și uscate pentru a da 2-cloro-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (5 g, 86%). ESI-MS m/z calc. 506,1503, găsit 507,0 (M+1)+; Timp de retenție: 2,9 minute. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,39 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 8,07 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,70 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,21 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 4,27 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 3,82 (s, 3H), 2,52 (s, 3H), 1,10 (s, 6H), 1,04 (s, 6H), 0,74 (t, J = 7,8 Hz, 1H).

Etapa 6: **N-(1,5-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă**



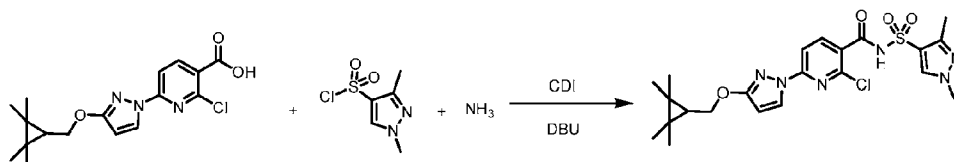
2-Cloro-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (4,9 g, 9,665 mmol) în NMP (24,50 mL) și 1,2-dietoxietan (4,900 mL) a fost tratată cu carbonat de potasiu (aproximativ 6,678 g, 48,32 mmol) urmat de adăugare atentă de (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (aproximativ 3,182 g, 21,26 mmol). Suspensia a fost ciclată de 3 ori vid/azot și încălzită la 130 °C (baie de ulei) sub azot timp de 16 ore. Apoi s-a adăugat o altă porțiune de (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (1 g, 6,682 mmol), și suspensia a fost încălzită la 130 °C (baie de ulei) sub azot timp de încă 3 ore. Suspensia caldă a fost adăugată încet la o soluție agitată energic de acid acetic (aproximativ 8,708 g, 8,246 mL, 145,0 mmol) în apă (147,0 mL) (degazare, spumare), agitată la temperatura camerei timp de 1h, filtrată și spălată cu multă apă. Solidul a fost dizolvat în diclorometan, uscat pe sulfat de magneziu, filtrat și evaporat. Produsul brut a fost

purificat prin cromatografie pe silicagel (220g, încărcare solidă) cu un gradient liniar de DCM până la metanol 5% în diclorometan. Frațiunile de produs au fost evaporate pentru a da 4,9 g de spumă galbenă. Compusul a fost dizolvat în DMSO (12 mL) și metanol (12 mL) și s-a adăugat încet apă (8 mL), conducând la cristalizare. S-a încălzit din nou și s-a diluat cu mai mult metanol (~30 mL) și suspensia groasă fierbinte a fost lăsată sub agitare la temperatura camerei timp de 1 oră. Solidul a fost colectat prin filtrare, spălat cu metanol/apă rece 4:1, multă apă rece și uscat sub vid într-un uscător dulap la 45 °C sub un flux de azot în timpul sfârșitului de săptămână pentru a da N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (3,12 g, 55%) ca un solid alburiu. ESI-MS m/z calc. 583,29407, găsit 584,0 (M+1)+; Timp de retenție: 3,39 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,32 (s, 1H), 8,19 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,73 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,13 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 4,23 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 3,78 (s, 3H), 2,53 (s, 4H), 2,40 (dd, J = 10,2, 7,1 Hz, 1H), 2,18 (tt, J = 12,4, 6,6 Hz, 1H), 1,87 (dd, J = 11,9, 5,6 Hz, 1H), 1,55 (d, J = 15,2 Hz, 6H), 1,43 (t, J = 12,1 Hz, 1H), 1,10 (s, 6H), 1,04 (s, 6H), 0,80 (d, J = 6,2 Hz, 3H), 0,73 (t, J = 7,8 Hz, 1H).

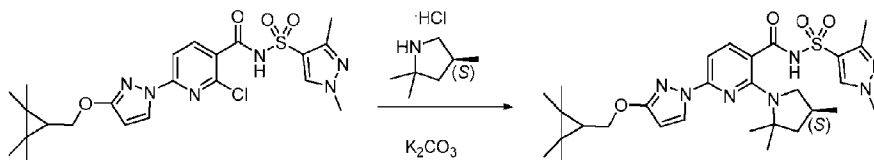
Sinteză de N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 20)

Etapa 1: 2-Cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă



Acid 2-cloro-6-[3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (100 mg, 0,2773 mmol) și CDI (54 mg, 0,3330 mmol) s-au combinat în THF (500 μL) și s-au agitat la temperatura camerei timp de 2 ore într-un flacon (flacon 1). Între timp, clorura de 1,3-dimetilpirazol-4-sulfonil (64 mg, 0,3288 mmol) a fost combinată cu amoniac (260 μL de 7 M, 1,820 mmol) (în metanol) într-un flacon separat (flacon 2). După agitare timp de încă 20 min, volatilele au fost îndepărtate din flaconul 2 prin evaporare, și la reziduul solid s-a adăugat 1 mL de diclorometan, și a fost de asemenea evaporat. Apoi la flaconul 2 s-a adăugat DBU (100 μL, 0,6687 mmol) și s-a agitat la 60 °C timp de 5 minute (pentru a facilita îndepărtarea amoniului din puțina clorură de amoniu reziduală). După răcire la temperatura camerei, s-a adăugat 1 mL THF și apoi s-a evaporat sub presiune redusă. Conținuturile flaconului 1 au fost apoi adăugate la flaconul 2 prin seringă, și amestecul de reacție a fost agitat timp de 4 ore la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost diluat cu 10 mL acetat de etil, și spălat cu 10 mL acid citric 1 M. Stratul apos a fost extras cu acetat de etil 2 x 10 mL, și organicele combinate au fost spălate cu sare, uscate pe sulfat de sodiu, și concentrate pentru a da un solid alb. Acest material a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară. 2Cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (133 mg, 95%) ESI-MS m/z calc. 506,1503, găsit 507,2 (M+1)+; Timp de retenție: 0,75 minute.

Etapa 2: N-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă



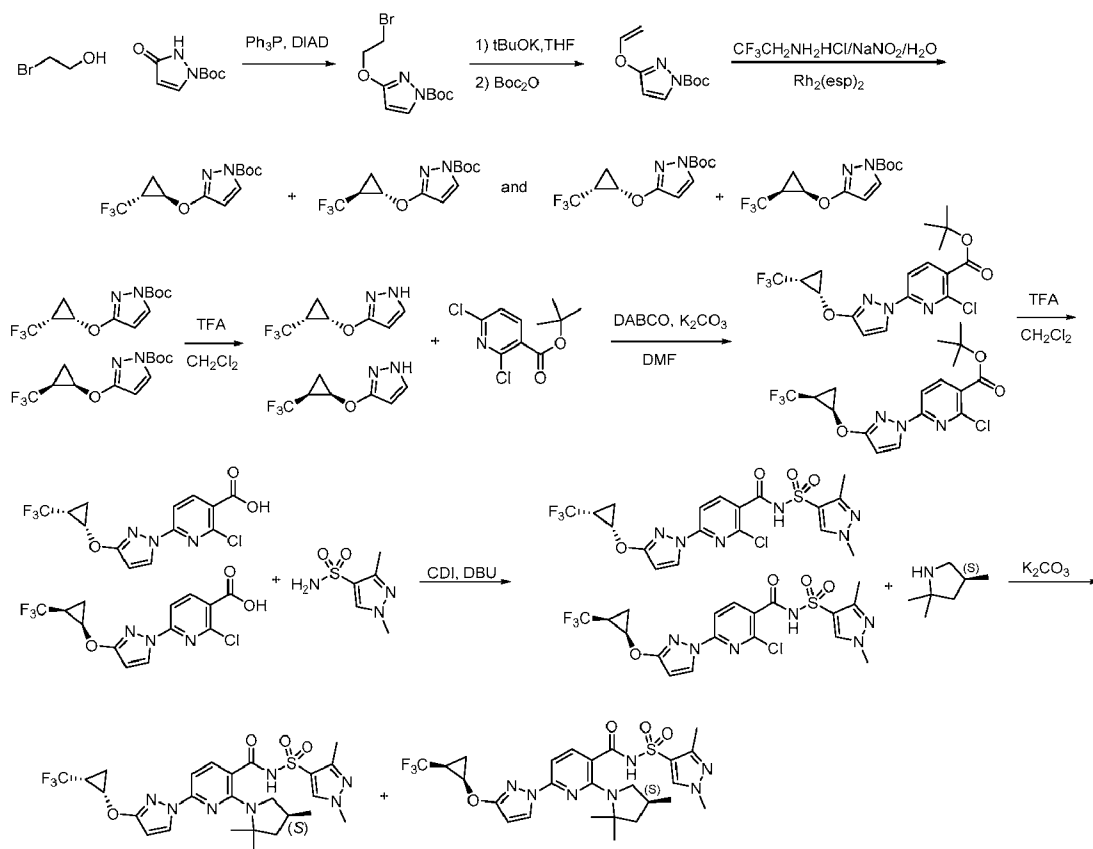
2-Cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (131 mg, 0,2584 mmol), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (aproximativ 116,0 mg, 0,7752 mmol), și carbonat de potasiu (aproximativ 214,8 mg, 1,554 mmol) s-au combinat în DMSO (444,6 μL) și s-au încălzit la 130 °C timp de 16 h. Masa de reacție a fost răcită la temperatura camerei, și s-a adăugat 1 mL de apă. După agitare 15 minute, conținuturile flaconului au fost lăsate să se decanteze, porțiunea lichidă a fost îndepărtată prin pipetă, și solidele rămase au fost dizolvate cu 20 mL acetat de etil, apoi spălate cu 15 mL acid citric 1 M. Stratul apos și cel organic au fost separate, și stratul apos a

fost extras încă de două ori cu 15 mL acetat de etil. Organicele au fost combinate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Solidul rezultat a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluand cu metanol 0-10% în diclorometan pentru a da un solid alb. Materialul rezultat a fost purificat suplimentar printr-o a doua rundă de cromatografie pe silicagel

5 cu un gradient de acetat de etil 0-100% în diclorometan, pentru a da un solid alb. N-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(2,2,3,3-tetrametilciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (31 mg, 21%) ESI-MS m/z calc. 583,29407, găsit 584,4 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,29 minute.

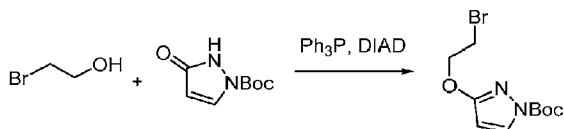
¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 12,35 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 8,19 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 7,73 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,91 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,13 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,24 (d, J = 7,7 Hz, 2H), 3,80 (s, 3H), 2,56 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 2,42 (q, J = 9,1 Hz, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,19 (dt, J = 11,9, 6,1 Hz, 1H), 1,87 (dd, J = 11,8, 5,5 Hz, 1H), 1,55 (d, J = 11,0 Hz, 6H), 1,42 (t, J = 12,1 Hz, 1H), 1,10 (s, 6H), 1,04 (d, J = 0,9 Hz, 6H), 0,81 (d, J = 6,2 Hz, 3H), 0,73 (t, J = 7,7 Hz, 1H).

15 **Sinteză de N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[2-(trifluorometil)ciclopropoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (amestec de *cis* izomeri) (Compusul 34)**



Etapa 1: 3-(2-Bromoetoxi)-1H-pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil

20



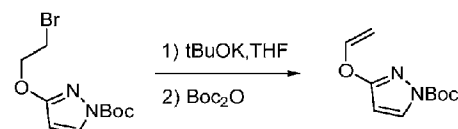
25

La soluția de 2-bromoetanol (1,69 g, 13,53 mmol), 2,3-dihidro-3-oxopirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (2,08 g, 11,28 mmol) și trifenilfosfină (3,55 g, 13,53 mmol) în tetrahidrofuran anhidru (45 mL) la 0 °C, s-a adăugat în picătură azodicarboxilat de diizopropil (2,74 g, 13,53 mmol). După ce adăugarea a fost completă, soluția de reacție a fost agitată la 0 °C timp de 1 oră, apoi încălzită la temperatura camerei și agitată timp de încă 2 ore. S-a adăugat eter (400 mL). Soluția organică a fost spălată cu soluție saturată de carbonat de sodiu apoasă (80 mL), saramură (50 mL), apoi uscată pe sulfat de magneziu, filtrată și concentrată sub presiune redusă. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel utilizând metoda cu gradient hexani-acetat de etil (0 până la 15% acetat de etil) pentru a da 3-(2-bromoetoxi)-1H-pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (2,56 g, 78%) ca solid alb.

30

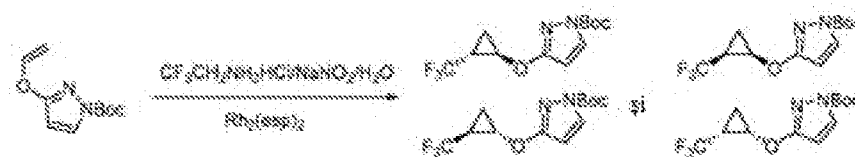
^1H RMN (250 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7,85 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H), 5,92 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H), 4,63 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 3,68 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 1,64 (s, 9H). ESI-MS m/z calc. 292,0 găsit 292,9 (M+1) $^+$. Timp de retenție: 4,91 minute.

Etapa 2: 3-(Viniloxi)-1H-pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil



La soluție de 3-(2-bromoetoxi)-1H-pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (2,52 g, 8,66 mmol) în tetrahidrofuran anhidru (90 mL) s-a adăugat *tert*-butoxid de potasiu (1,46 g, 13,0 mmol). Soluția rezultată a fost agitată timp de 2 ore, apoi s-a adăugat di-*tert*-butil dicarbonat (5,67 g, 26,0 mmol), și masa de reacție a fost agitată timp de încă 1 oră. S-a adăugat dietil eter (400 mL). Straturile organice au fost spălate cu apă (50 mL), saramură (2 x 50 mL), uscate pe pe sulfat de magneziu uscat, filtrate și concentrate sub presiune redusă. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel utilizând metodă cu gradient hexani-acetat de etil (acetat de etil 0 până la 10%) pentru a da 3-(viniloxi)-1H-pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (1,10 g, 60%) ca ulei incolor. ^1H RMN (250 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7,89 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H), 7,24 (dd, $J = 6, 13,5$ Hz, 1H), 5,95 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H), 4,88 (dd, $J = 1,8, 13,5$ Hz, 1H), 4,50 (dd, $J = 1,8, 6,0$ Hz, 1H), 1,62 (s, 9H). ESI-MS m/z calc. 210,1 găsit 211,0 (M+1) $^+$. Timp de retenție: 4,74 minute.

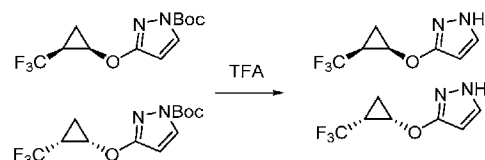
Etapa 3: 3-((cis)-2-(Trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil și 3-((trans)-2-(Trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil



La 3-viniloxi-1H-pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (1,10 g, 5,23 mmol) într-un balon în formă de pară (100 mL) s-a adăugat apă (20 mL) și s-a barbotat cu argon timp de 5 minute, apoi s-a adăugat acetat de sodiu (85,8 mg, 1,05 mmol) urmat de clorhidrat 2,2,2-trifluoroetilamină (3,57 g, 26,17 mmol) și acid sulfuric concentrat (51,3 mg, 0,523 mmol). Soluția a fost barbotată cu argon timp de încă 5 minute înainte de a se adăuga acid bis[rodiu($\alpha,\alpha,\alpha',\alpha'$ -tetrametil-1,3-benzendipropionic)] (397 mg, 0,523 mmol). Soluția de reacție a fost menținută sub balon cu argon în timp ce s-a adăugat soluție apoasă de nitrit de sodiu (2,17 g, 31,4 mmol) în apă (12,8 mL) prin pompă cu seringă în 10 ore. După ce adăugarea a fost completă, soluția rezultată a fost agitată timp de încă 6 ore. S-a adăugat dietil eter (300 mL) și stratul organic a fost separat. Apoi stratul organic a fost spălat cu saramură (30 mL), uscat pe sulfat de magneziu, filtrat și concentrat sub presiune redusă. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel utilizând o metodă cu gradient hexani - diclorometan (0 până la 100% diclorometan). Reziduul obținut a fost supus la cromatografie pe silicagel din nou (hexani și acetat de etil, gradient acetat de etil 0 până la 10%) pentru a da izomerii cis și trans.

3-((trans)-2-(Trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil: (366 mg, 24%). ESI-MS m/z calc. 292,1 găsit 293,1 (M+1) $^+$. Timp de retenție: 5,22 minute. ^1H RMN (250 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7,84 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 5,91 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 4,49 (m, 1H), 1,75 (m, 1H), 1,62 (s, 9H), 1,56-1,25 (m, 2H). 3-((cis)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil: (314 mg, 21%). ESI-MS m/z calc. 292,1 găsit 293,1 (M+1) $^+$. Timp de retenție: 5,48 minute. ^1H RMN (250 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7,90 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 5,92 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 4,49 (m, 1H), 1,94 (m, 1H), 1,62 (s, 9H), 1,30 (m, 2H).

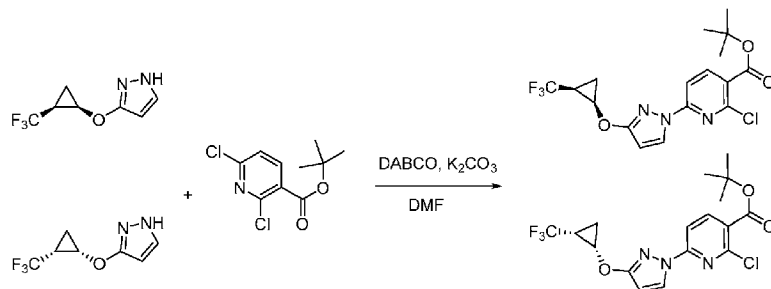
Etapa 4: 3-((cis)-2-(Trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol



Acid trifluoroacetic (2,76 g, 24,3 mmol) s-a adăugat la soluție de 3-((cis)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (708 mg, 2,43 mmol) în diclorometan anhidru (24 mL). Soluția rezultată a fost agitată la temperatura camerei timp de 16

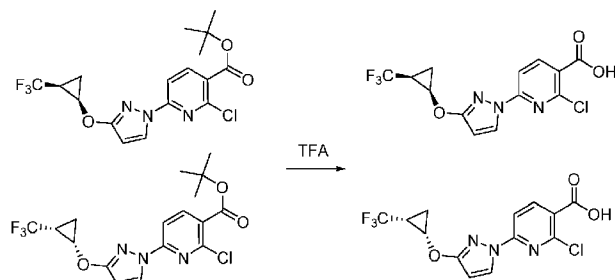
ore. La soluția de reacție s-a adăugat 1,2-dicloroetan (10 mL). Toți solvenții au fost îndepărtați sub presiune redusă. Reziduul obținut a fost dizolvat în etil eter (150 mL), spălat cu soluție saturată de bicarbonat de sodiu apos (30 mL). Soluția organică a fost uscată pe sulfat de magneziu, filtrată și concentrată sub presiunea redusă pentru a da 3-((cis)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol brut (461 mg, 99%) ca ulei galben maro. Produsul brut a fost utilizat direct în etapa următoare fără nici o purificare suplimentară. ESI-MS m/z calc. 192,1 găsit 193,0 $M+1$ ⁺. Timp de retenție: 3,26 minute.

Etapa 5: 2-Cloro-6-(3-((cis)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinat de *terț*-butil



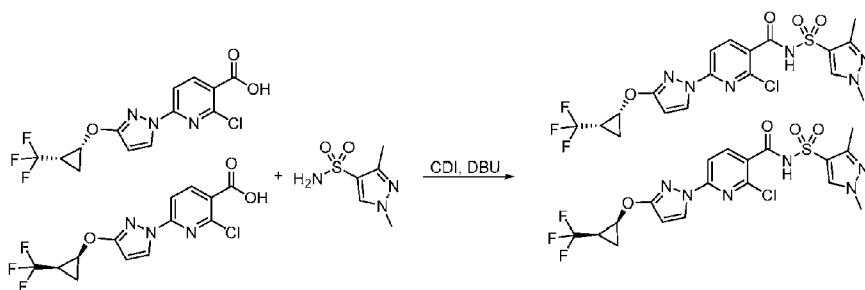
La soluție de 3-((cis)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol brut (461 mg, 2,43 mmol) în dimetilformamidă (8 mL) s-a adăugat 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de *terț*-butil (659 mg, 2,67 mmol), carbonat de potasiu (669 mg, 4,85 mmol) și 1,4-diazabicyclo [2,2,2]octan (55 mg, 0,49 mmol). Masa de reacție a fost agitată la temperatura camerei timp de 48 ore. Soluția de reacție a fost diluată cu eter (200 mL), spălată cu apă (4 x 20 mL) și saramură (20 mL). Stratul organic a fost uscat pe sulfat de magneziu, filtrat și concentrat sub presiune redusă. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel utilizând o metodă cu gradient hexani - diclorometan (0 până la 100% diclorometan) pentru a da 2-cloro-6-(3-((cis)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinat *terț*-butil (731 mg, 68%) ca solid alb. ¹H RMN (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8,39 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 8,22 (d, J = 8,5Hz, 1H), 7,74 (d, J = 8,5Hz, 1H), 6,01 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 4,33 (m, 1H), 1,93(m, 1H), 1,62(s, 9H), 1,45-1,26(m, 2H). ESI-MS m/z calc. 403,1 găsit 404,1 $M+1$ ⁺. Timp de retenție: 7,29 minute.

Etapa 6: Acid 2-cloro-6-(3-((cis)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinic



Acid trifluoroacetic (2,03 g, 17,8 mmol) s-a adăugat la soluția de 2-cloro-6-(3-((cis)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinat de *terț*-butil (718 mg, 1,78 mmol) în diclorometan anhidru (18 mL). Soluția rezultată a fost agitată la temperatura camerei timp de 16 ore. La soluția de reacție s-a adăugat 1,2-dicloroetan (10 mL). Toți solvenții au fost îndepărtați sub presiunea redusă. La solidul brut obținut s-a adăugat etil eter 10% în hexani (25 mL) și s-a sonicat timp de 30 minute, s-a filtrat, s-a spălat cu etil eter 10% în hexani (10 mL), hexani (10 mL) și s-a uscat sub vid înalt pentru a da acid 2-cloro-6-(3-((cis)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinic (517 mg, 84%) ca solid alb. ¹H RMN (500 MHz, DMSO) δ (ppm): 13,6 (bs, 1H), 8,47 (d, J = 3,0 Hz, 1H), 8,42 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,72 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,27 (d, J = 3,0 Hz, 1H), 4,46 (m, 1H), 2,40 (m, 1H), 1,47 (m, 1H), 1,32 (m, 1H). ESI-MS m/z calc. 347,0 găsit 347,9 $M+1$ ⁺. Timp de retenție: 5,20 minute.

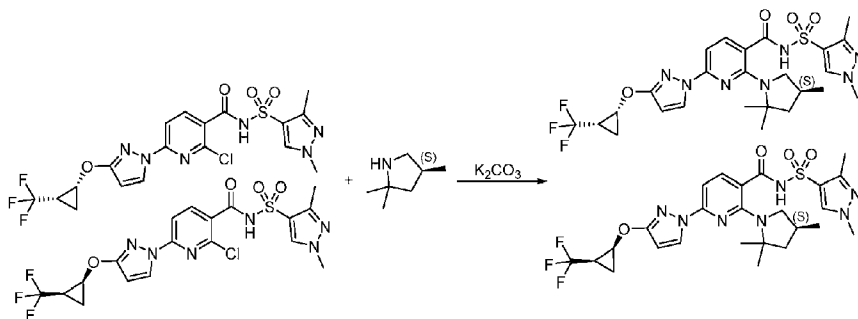
Etapa 7: 2-Cloro-N-((1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-((cis)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinamidă



Acid 2-cloro-6-(3-((*cis*)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinic (125 mg, 0,3595 mmol) a fost dizolvat în THF (1 mL). S-a adăugat di(imidazol-1-il)metanonă (aproximativ 69,95 mg, 0,4314 mmol). Amestecul de reacție a fost lăsat să se agite la temperatura camerei timp de 1 oră. S-a adăugat 1,3-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (aproximativ 75,59 mg, 0,4314 mmol) urmat de DBU (aproximativ 65,67 mg, 64,51 μ L, 0,4314 mmol). Amestecul final de reacție a fost lăsat să se agite peste noapte la temperatura camerei. Volatilele au fost îndepărtate prin evaporare. Amestecul a fost preluat în EtOAc (50 mL) și spălat cu soluție apoasă de acid citric 1 M (2 $\times$ 50 mL) și saramură (1 $\times$ 50 mL). Stratul organic a fost uscat pe sulfat de sodiu, filtrat, și concentrat sub presiune redusă pentru a da 2-cloro-N-((1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-((*cis*)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinamidă (210 mg). ESI-MS m/z calc. 504,05945, găsit 505,0 ($M+1$)+; Timp de retenție: 0,61 minute.

Etapă 8: *N*-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[2-(trifluorometil)ciclopropoxi]pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (amestec de *cis* izomeri)

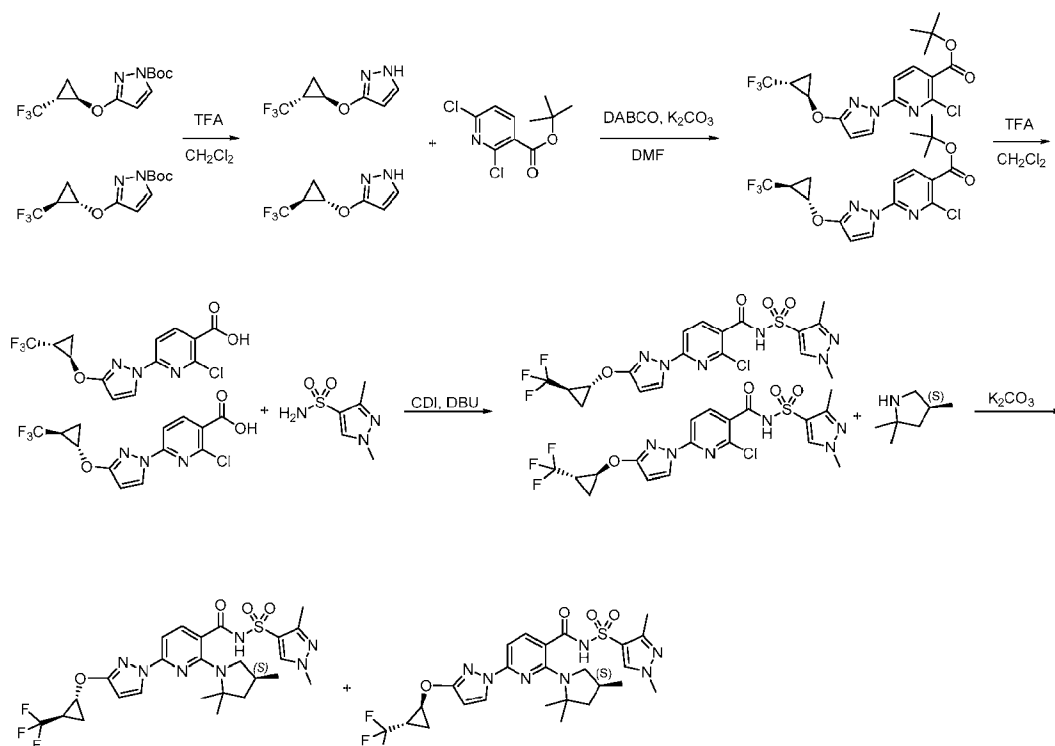
15



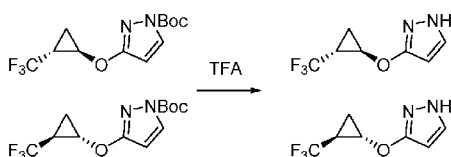
2-Cloro-N-((1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-((*cis*)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinamidă (181,5 mg, 0,3595 mmol) a fost dizolvată în DMSO (1 mL). S-a adăugat (4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (aproximativ 161,3 mg, 1,078 mmol) urmată de carbonat de potasiu (aproximativ 298,1 mg, 2,157 mmol). Amestecul de reacție a fost lăsat să se agite la 130 °C peste noapte. După răcire la temperatura camerei, amestecul de reacție a fost diluat cu EtOAc (50 mL) și spălat cu acid apos citric (1 M, 2 $\times$ 50 mL) și saramură (1 $\times$ 50 mL). Stratul organic a fost uscat pe sulfat de sodiu, filtrat și concentrat sub presiune redusă. Produsul a fost izolat prin cromatografie pe coloană cu silicagel pe o coloană cu silicagel de 12 grame eluand cu un gradient EtOAc/hexan 0-10% pentru a da *N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[2-(trifluorometil)ciclopropoxi]pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (amestec de *cis* izomeri) (128,4 mg) ESI-MS m/z calc. 581,2032, găsit 582,3 ($M+1$)+; Timp de retenție: 1,93 minute.

Sinteză de *N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[2-(trifluorometil)ciclopropoxi]pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (amestec de *trans* izomeri) (Compusul 35)

30

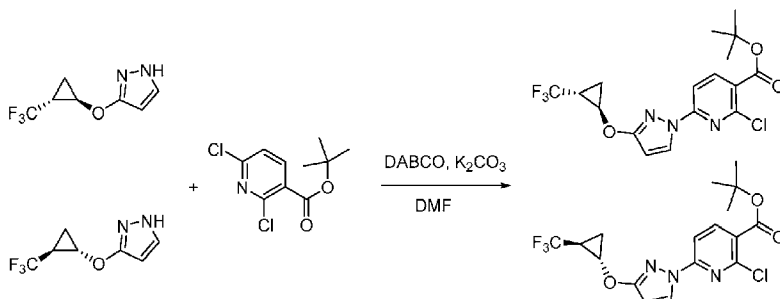


Etapa 1: 3-((trans)-2-(Trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol



- 5 Acid trifluoroacetic (3,15 g, 27,64 mmol) s-a adăugat la soluția de 3-((trans)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (807 mg, 2,76 mmol) în diclorometan anhidru (28 mL). Soluția rezultată a fost agitată la temperatura camerei timp de 16 ore. La soluția de reacție s-a adăugat 1,2-dicloroetan 1 (15 mL). Toți solvenții au fost îndepărtați sub presiunea redusă. Reziduul obținut a fost dizolvat în etil eter (200 mL), spălat cu soluție saturată de bicarbonat de sodiu apoasă (30 mL). Soluția organică a fost uscată pe sulfat de magneziu, filtrată și concentrată sub presiune redusă pentru a da 3-((trans)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol brut (525 mg, 99%) ca ulei galben maro. Produsul brut a fost utilizat direct în etapa următoare fără nici o purificare suplimentară. ESI-MS *m/z* calc. 192,1 găsit 193,0 (M+1)⁺. Timp de retenție: 2,97 minute.

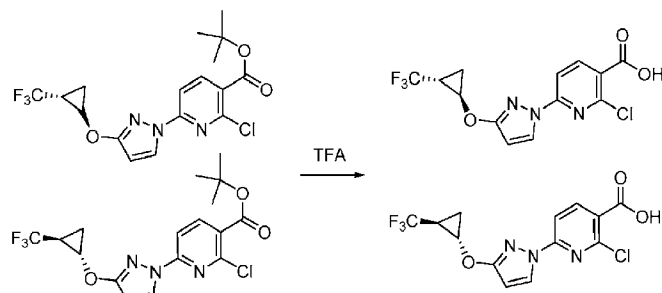
- 15 **Etapa 2: 2-Cloro-6-(3-((trans)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinat de *terț*-butil**



- 20 La soluția de 3-((trans)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol brut (525 mg, 2,76 mmol) în dimetilformamidă (9,2 mL) s-a adăugat 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de *terț*-butil (751 mg, 3,04 mmol), carbonat de potasiu (763 mg, 5,53 mmol) și 1,4-diazabicyclo [2,2,2]octan (62 mg, 0,55 mmol). Masa de reacție a fost agitată la temperatura camerei timp de 48 ore. Soluția de reacție a fost diluată cu eter (250 mL), spălată cu apă (4 x 20 mL) și saremură (20 mL). Stratul organic a fost uscat pe sulfat de magneziu, filtrat și concentrat sub presiune redusă. Reziduul

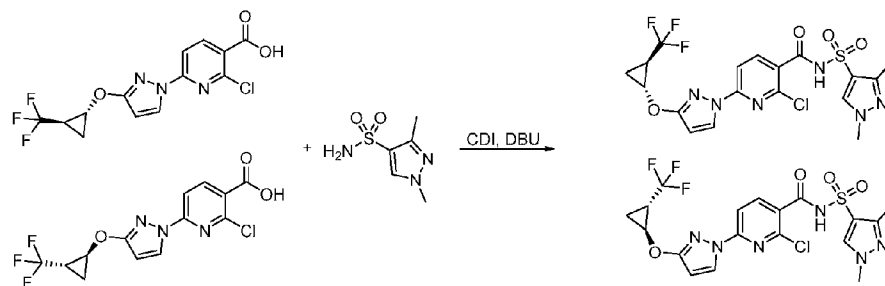
obținut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel utilizând o metodă cu gradient hexani - diclorometan (diclorometan 0 până la 100%) pentru a da 2-cloro-6-(3-((trans)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinat de *terț*-butil (314 mg, 21%) ca ulei incolor. ESI-MS m/z calc. 403,1 găsit 404,1 ($M+1$)⁺. Timp de retenție: 6,92 minute. ¹H RMN (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8,38 (d, J = 3,0 Hz, 1H), 8,20 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,73 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,03 (d, J = 3,0 Hz, 1H), 4,39 (m, 1H), 1,77 (m, 1H), 1,62 (s, 9H), 1,44 (m, 1H), 1,31 (m, 1H).

Etapă 3: Acid 2-cloro-6-(3-((trans)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinic



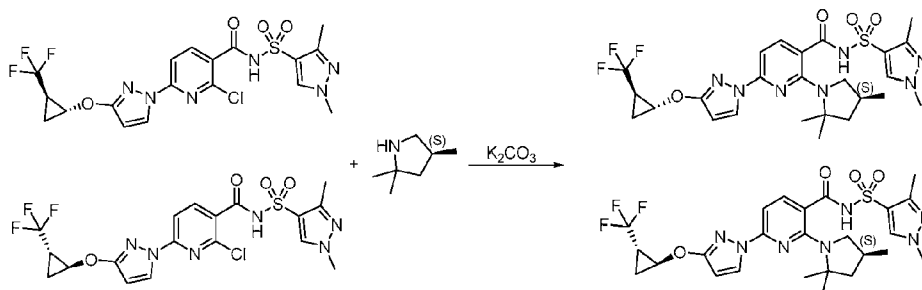
Acid trifluoroacetic (2,39 g, 21,0 mmol) s-a adăugat la soluție de 2-cloro-6-(3-((trans)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinat de *terț*-butil (847 mg, 2,10 mmol) în diclorometan anhidru (21 mL). Soluția rezultată a fost agitată la temperatura camerei timp de 20 ore. La amestecul de reacție s-a adăugat 1,2-dicloroetan (15 mL). Toți solvenții au fost îndepărtați sub presiune redusă. La solidul brut obținut s-a adăugat etil eter 10% în hexani (30 mL) și s-a sonicat timp de 30 minute, s-a filtrat, s-a spălat cu etil eter 10% în hexani (10 mL), hexani (10 mL) și s-a uscat sub vid înalt pentru a da acid 2-cloro-6-(3-((trans)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinic (600 mg, 82%) ca solid alb. ESI-MS m/z calc. 347,0 găsit 347,9 ($M+1$)⁺. Timp de retenție: 4,91 minute. ¹H RMN (500 MHz, DMSO) δ (ppm): 8,46 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 8,41 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,74 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,30 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 4,46 (m, 1H), 2,15 (m, 1H), 1,40 (m, 1H), 1,34 (m, 1H).

Etapă 4: 2-Cloro-N-((1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-((trans)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinamidă



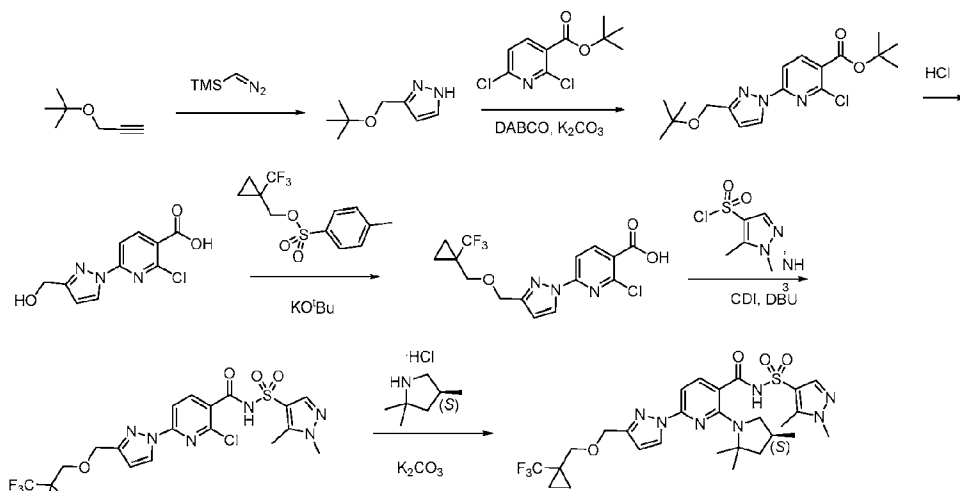
Acid 2-cloro-6-(3-((trans)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinic (125 mg, 0,3595 mmol) a fost dizolvat în THF (1 mL). S-a adăugat di(imidazol-1-il)metanonă (aproximativ 69,95 mg, 0,4314 mmol). Amestecul de reacție a fost lăsat să se agite la temperatura camerei timp de 1 oră. S-a adăugat 1,3-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (aproximativ 75,59 mg, 0,4314 mmol) urmată de DBU (aproximativ 65,67 mg, 64,51 μ L, 0,4314 mmol). Amestecul final de reacție a fost lăsat să se agite peste noapte la temperatura camerei. Volatilele au fost îndepărtate prin evaporare. Amestecul a fost preluat în EtOAc (50 mL) și spălat cu soluție apoasă de acid citric 1 M (2 $\times$ 50 mL) și saramură (1 $\times$ 50 mL). Stratul organic a fost uscat pe sulfat de sodiu, filtrat și concentrat sub presiune redusă pentru a da 2-cloro-N-((1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-((trans)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinamidă (203 mg). ESI-MS m/z calc. 504,05945, găsit 505,0 ($M+1$)⁺; Timp de retenție: 0,59 minute.

Etapă 5: N-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[2-(trifluorometil)ciclopropoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (amestec de izomeri *trans*)

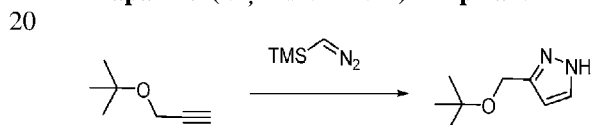


- 2-Cloro-N-((1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-((trans)-2-(trifluorometil)ciclopropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinamidă (181,5 mg, 0,3595 mmol) a fost dizolvată în DMSO (1 mL). S-a adăugat (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (aproximativ 161,3 mg, 1,078 mmol) urmată de carbonat de potasiu (aproximativ 298,1 mg, 2,157 mmol). Amestecul de reacție a fost lăsat să se agite la 130 °C peste noapte. După răcire la temperatura camerei, amestecul de reacție a fost diluat cu EtOAc (50 mL) și spălat cu acid apos citric (1 M, 2 × 50 mL) și saramură (1 × 50 mL). Stratul organic a fost uscat pe sulfat de sodiu, filtrat, și concentrat sub presiune redusă. Produsul a fost izolat prin cromatografie pe coloană cu silicagel pe o coloană cu silicagel de 12 grame eluand cu un gradient EtOAc/hexan 0-10% pentru a da N-((1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil)-6-[3-[2-(trifluorometil)ciclopropoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (amestec de izomeri *trans*) (114,9 mg). ESI-MS *m/z* calc. 581,2032, găsit 582,4 (M+1)⁺; Timp de retenție: 1,86 minute.

- Sinteză de (S)-N-((1,5-dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-(((1-(trifluorometil)ciclopropil)metoxi)metil)-1H-pirazol-1-il)-2-(2,2,4-trimetilpirolidin-1-il)nicotinamidă (Compusul 25)**

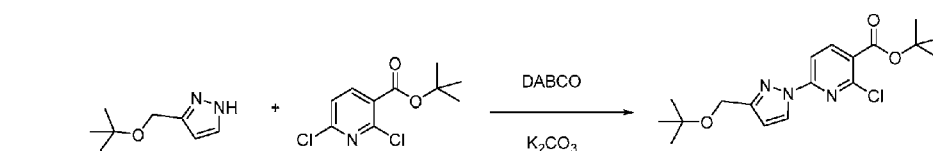


- Etapa 1: 3-(*tert*-Butoximetil)-1H-pirazol**



- Alcool *tert*-butilpropargilic (2,5 g, 22,2 mmol) a fost amestecat cu trimetilsilil diazometan (2,0 M în hexan, 11,1 mL, 22,2 mmol) și agitat într-o eprubetă etanșată la 115 °C timp de 18 ore. Amestecul a fost răcit la 40 °C și stins cu metanol (5 mL) și concentrat. Cromatografia pe coloană (silica; heptani/EtOAc 2:1 până la 1:1) a dat 3-(*tert*-butoximetil)-1H-pirazol ca ulei incolor (1,5 g, 44%). ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz): δ 1,26 (s, 9H); 4,53 (s, 2H); 6,22 (s, 1H); 7,48 (s, 1H).

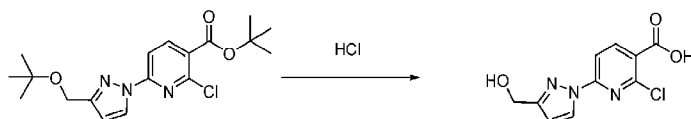
Etapa 2: 6-[3-(*tert*-Butoximetil)pirazol-1-il]-2-cloro-piridin-3-carboxilat de *tert*-butil



- Un balon cu fund rotund de 100 mL a fost încărcat sub azot cu 3-(*tert*-butoximetil)-1H-pirazol (1,241 g, 8,047 mmol), 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de *tert*-butil (2,0 g, 8,061 mmol),

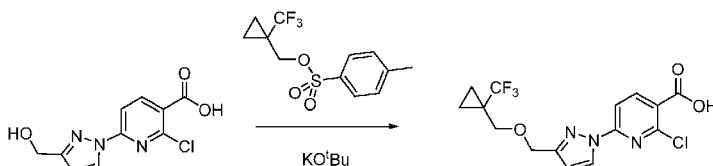
carbonat de potasiu (1,448 g, 10,48 mmol) (proaspăt mărunțit într-un mojar) și DMF anhidră (12,41 mL). S-a adăugat DABCO (163 mg, 1,453 mmol), și amestecul a fost agitat la temperatura camerei sub azot timp de 16 ore. Amestecul de reacție a fost diluat cu acetat de etil (50 mL) și apă și saramură (50 mL), și cele două faze au fost separate. Faza apoasă a fost extrasă suplimentar cu acetat de etil (2 x 30 mL). Extractele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și solventul îndepărtat sub presiune redusă. Materialul a fost supus la flash cromatografie pe silicagel utilizând un gradient de acetat de etil (0 până la 10%) în hexani. Frațiunile pure au fost combinate și solventii îndepărtați sub presiune redusă pentru a furniza 6-[3-(*terț*-butoximetil)pirazol-1-il]-2-cloro-piridin-3-carboxilat de *terț*-butil (1,956 g, 66%) ca ulei incolor, care s-a solidificat la un solid alb peste noapte la vid înalt. ESI-MS m/z calc. 365,1506, găsit 366,2 ($M+1$)⁺; Timp de retenție: 0,82 minute.

Etapă 3: Acid 2-cloro-6-[3-(hidroximetil)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic



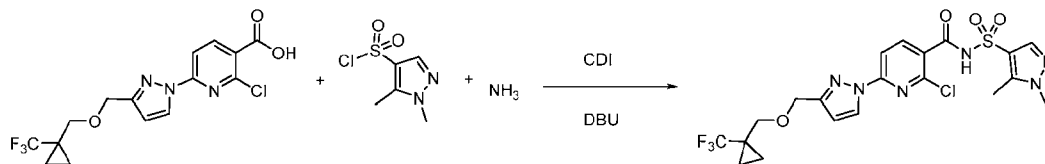
6-[3-(*terț*-Butoximetil)pirazol-1-il]-2-cloro-piridin-3-carboxilat de *terț*-butil (538 mg, 1,471 mmol) a fost dizolvat în HCl în dioxan (8,0 mL de 4 M, 32,00 mmol) și încălzit la 60 °C timp de 2 ore. Amestecul de reacție a fost apoi răcit la temperatura camerei și concentrat la sec, dând o pulbere albă. Acid 2-cloro-6-[3-(hidroximetil)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (370 mg, 99%) ESI-MS m/z calc. 253,02542, găsit 254,1 ($M+1$)⁺; Timp de retenție: 0,33 minute

Etapă 4: Acid 2-cloro-6-(3-(((1-(trifluorometil)ciclopropil)metoxi)metil)-1H-pirazol-1-il)nicotinic



4-Metilbenzensulfonat de [1-(trifluorometil)ciclopropil]metil (1,3 g, 4,417 mmol), și acid 2-cloro-6-[3-(hidroximetil)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (370 mg, 1,459 mmol), s-au combinat în DMSO anhidru (9,250 mL). S-a adăugat *terț*-butoxid de potasiu (660 mg, 5,882 mmol), și amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei. După 30 minute amestecul de reacție a fost turnat în acid citric 1 M (15 mL) și extras cu acetat de etil 3 x 15 mL. Organicele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Materialul rezultat a fost purificat prin cromatografie pe silicagel utilizând un gradient metanol 0-10% în diclorometan. Frațiunile conținând produs au fost colectate și concentrate pentru a da un solid alb. Acid 2-cloro-6-(3-(((1-(trifluorometil)ciclopropil)metoxi)metil)-1H-pirazol-1-il)nicotinic (292 mg, 53%) ESI-MS m/z calc. 375,05975, găsit 376,1 ($M+1$)⁺; Timp de retenție: 0,62 minute.

Etapă 5: 2-Cloro-N-(((1,5-dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-(((1-(trifluorometil)ciclopropil)metoxi)metil)-1H-pirazol-1-il)nicotinamidă

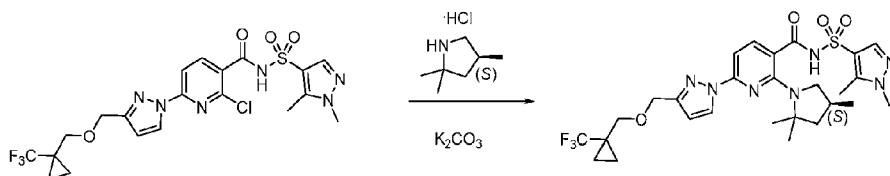


Acid 2-cloro-6-(3-(((1-(trifluorometil)ciclopropil)metoxi)metil)-1H-pirazol-1-il)nicotinic (50 mg, 0,1331 mmol) și CDI (26 mg, 0,1603 mmol) s-au combinat în THF (300,0 μ L) și s-au agitat la temperatura camerei timp de 2 ore într-un flacon (flacon 1). Intre timp, clorura de 1,5-dimetilpirazol-4-sulfonil (31 mg, 0,1593 mmol) a fost combinată cu amoniac (125 μ L de 7 M, 0,8750 mmol) într-un flacon separat (flacon 2). După agitare timp de încă 20 min, volatilele au fost îndepărtate din flaconul 2 prin evaporare, și la reziduul solid s-a adăugat 1 mL de diclorometan, și de asemenea s-a evaporat. Apoi la flaconul 2 s-a adăugat DBU (60 μ L, 0,4012 mmol) și s-a agitat la 60 °C timp de 5 minute (pentru a facilita îndepărtarea amoniacului din puțina clorură de amoniu reziduală). După răcire la temperatura camerei s-a adăugat 1 mL THF și apoi s-a evaporat sub presiune redusă. Conținuturile flaconului 1 au fost apoi adăugate la flaconul 2 prin seringă, și amestecul de reacție a fost agitat timp de 4 ore la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost

diluat cu 10 mL acetat de etil, și spălat cu 10 mL acid citric 1 M. Stratul apos a fost extras cu acetat de etil 2 x 10 mL, și organicele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și concentrate pentru a da un solid alb. Acest material a fost utilizat în etapa următoare fără

purificare suplimentară. 2-Cloro-N-((1,5-dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-(((1-(trifluorometil)ciclopropil)metoxi)metil)-1H-pirazol-1-il)nicotinamidă (65 mg, 50%) ESI-MS m/z calc. 532,09076, găsit 533,2 (M+1)+; Timp de retenție: 1,34 minute.

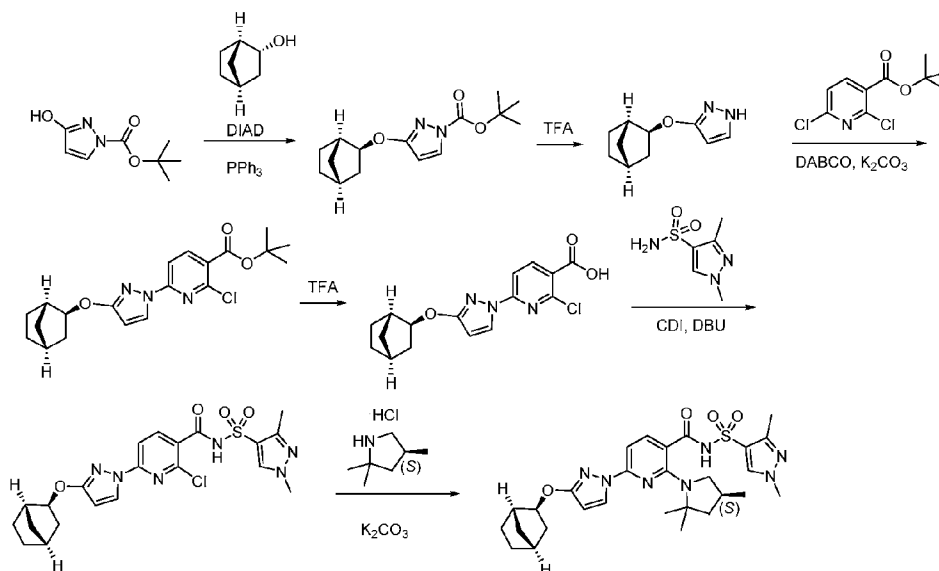
Etapa 6: (S)-N-((1,5-Dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-(((1-(trifluorometil)ciclopropil)metoxi)metil)-1H-pirazol-1-il)-2-(2,2,4-trimetilpirolidin-1-il)nicotinamidă



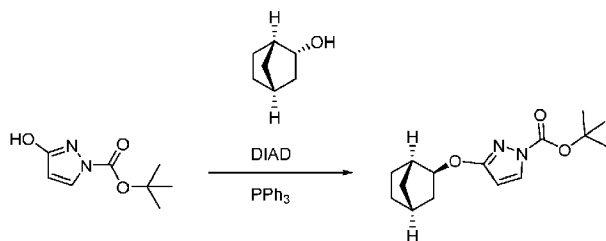
2-Cloro-N-((1,5-dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-(((1-(trifluorometil)ciclopropil)metoxi)metil)-1H-pirazol-1-il)nicotinamidă (67 mg, 0,1257 mmol), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (94 mg, 0,6281 mmol), și carbonat de potasiu (174 mg, 1,259 mmol) s-au combinat în DMSO (335,0 μ L) și s-au încălzit la 130 °C timp de 16 h. Masa de reacție a fost răcită la temperatura camerei, și s-a adăugat 1 mL de apă. După agitare 15 minute, conținuturile flaconului au fost lăsate să se decanteze, porțiunea lichidă a fost îndepărtată cu pipeta, și solidele rămase au fost dizolvate cu 20 mL acetat de etil, apoi spălate cu 15 mL acid citric 1 M. Stratul apos și cel organic au fost separate, și stratul apos a fost extras suplimentar de două ori cu 15 mL acetat de etil. Organicele au fost combinate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Solidul rezultat a fost purificat suplimentar prin cromatografie pe silicagel eluand cu metanol 0-10% în diclorometan pentru a da un solid alb. (S)-N-((1,5-dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-(((1-(trifluorometil)ciclopropil)metoxi)metil)-1H-pirazol-1-il)-2-(2,2,4-trimetilpirolidin-1-il)nicotinamidă (17 mg, 22%). ESI-MS m/z calc. 609,2345, găsit 610,3 (M+1)+; Timp de retenție: 1,96 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 12,36 (s, 1H), 8,34 (d, J = 2,6 Hz, 1H), 7,85 - 7,71 (m, 2H), 7,05 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,56 (d, J = 2,6 Hz, 1H), 4,55 (s, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,59 (s, 2H), 2,58 (t, J = 10,4 Hz, 1H), 2,53 (s, 3H), 2,45 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 2,19 (dt, J = 12,2, 6,6 Hz, 1H), 1,94 - 1,84 (m, 1H), 1,56 (d, J = 15,0 Hz, 6H), 1,45 (t, J = 12,2 Hz, 1H), 1,00 - 0,96 (m, 2H), 0,86 (tq, J = 4,4, 3,1, 2,4 Hz, 2H), 0,81 (d, J = 6,2 Hz, 3H).

Sinteză de N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(1S,2S,4R)-norbomnan-2-il]oxipirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 51)

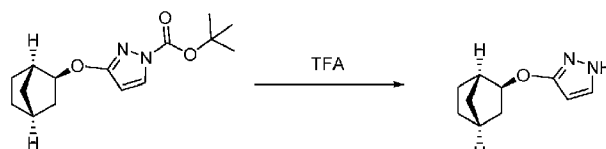


Etapa 1: 3-(((1S,2S,4R)-Biciclo[2,2,1]heptan-2-il)oxi)-1H-pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil



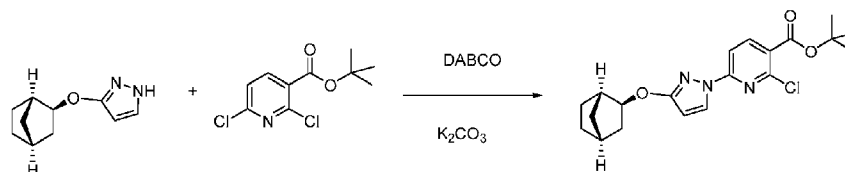
- 3-Hidroxi-pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (1,632 g, 8,860 mmol), (+)-endo-2-norborneol (1 g, 8,915 mmol), și trifenil fosfină (2,57 g, 9,798 mmol) s-au combinat în THF (21,98 mL), și masa de reacție a fost răcită într-o baie de gheață. La amestec s-a adăugat în picătură DIAD (2 mL, 10,16 mmol), și masa de reacție a fost lăsată să se încălzească la temperatura camerei și să se agită timp de 16 h. Amestecul a fost evaporat, și materialul rezultat a fost partiționat între acetat de etil (30 mL) și hidroxid de sodiu 1 N (30 mL). Organicele au fost separate, spălate cu saramură (30 mL), uscate pe sulfat de sodiu și evaporate. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluând cu acetat de etil 0-30% în hexani pentru a da 3-((1S,2S,4R)-bicielo[2,2,1]heptan-2-il)oxi-1H-pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (2,08 g, 84%) ESI-MS *m/z* calc. 278,16306, găsit 279,3 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,72 minute.
- ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 8,05 (d, J = 3,0 Hz, 1H), 6,07 (d, J = 3,0 Hz, 1H), 4,47 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 2,43 - 2,36 (m, 1H), 2,32 - 2,22 (m, 1H), 1,75 (td, J = 6,7, 2,4 Hz, 1H), 1,54 (s, 9H), 1,53 - 1,49 (m, 2H), 1,42 (ddt, J = 14,8, 7,8, 4,4 Hz, 2H), 1,18 - 1,07 (m, 3H).

Etapa 2: 3-[(1S,2S,4R)-Norbornan-2-il]oxi-1H-pirazol



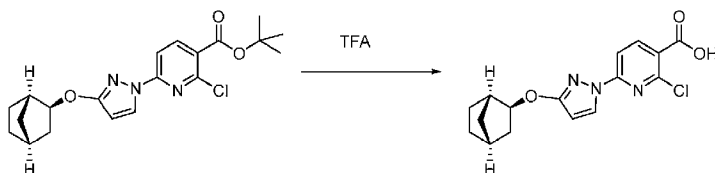
- 3-[(1S,2S,4R)-Norbornan-2-il]oxipirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (2,08 g, 7,473 mmol) a fost dizolvat în diclorometan (20,80 mL) cu acid trifluoroacetic (5,8 mL, 75,28 mmol), și masa de reacție a fost agitată la temperatura camerei timp de 1 oră. Masa de reacție a fost evaporată sub presiune redusă, și uleiul rezultat a fost partiționat între acetat de etil (50 mL) și o soluție saturată de bicarbonat de sodiu (30 mL). Organicele au fost separate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate sub vid pentru a da un ulei, 3-[(1S,2S,4R)-norbornan-2-il]oxi-1H-pirazol (1,29 g, 97%) ESI-MS *m/z* calc. 178,11061, găsit 179,2 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,45 minute.

Etapa 3: 2-Cloro-6-[3-[(1S,2S,4R)-norbornan-2-il]oxipirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *terț*-butil



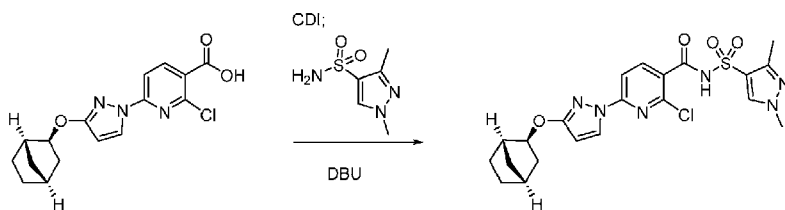
- Un balon cu fund rotund de 100 mL a fost încărcat sub azot cu 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de *terț*-butil (1,796 g, 7,239 mmol), 3-[(1S,2S,4R)-norbornan-2-il]oxi-1H-pirazol (1,29 g, 7,238 mmol), și carbonat de potasiu (1,310 g, 9,479 mmol) (proaspăt mărunțit într-un mojar) și DMF anhidră (12 mL). S-a adăugat DABCO (146 mg, 1,302 mmol), și amestecul a fost agitat la temperatura camerei sub azot timp de 8 ore. Amestecul de reacție a fost diluat cu acetat de etil (50 mL), apă și saramură (50 mL), și cele două faze au fost separate. Faza apoasă a fost extrasă suplimentar cu acetat de etil (2 x 50 mL). Extractele combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu și solventul îndepărtat sub presiune redusă. Materialul a fost supus la flash cromatografie pe silicagel utilizând un gradient de acetat de etil (0 până la 20%) în hexani. Frațiunile pure au fost combinate și solvenții îndepărtați sub presiune redusă pentru a furniza 2-cloro-6-[3-[(1S,2S,4R)-norbornan-2-il]oxipirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *terț*-butil (1,814 g, 64%) ESI-MS *m/z* calc. 389,1506, găsit 390,3 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,92 minute.
- ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 8,40 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 8,32 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,72 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,18 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 4,53 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 1,88 - 1,78 (m, 1H), 2,45 (d, J = 4,6 Hz, 1H), 2,29 (t, J = 4,3 Hz, 1H), 1,56 (s, 9H), 1,55 - 1,39 (m, 4H), 1,22 - 1,08 (m, 3H).

Etapa 4: Acid 2-cloro-6-[3-(1S,2S,4R)-norbornan-2-il]oxipirazol-1-il]piridin-3-carboxilic



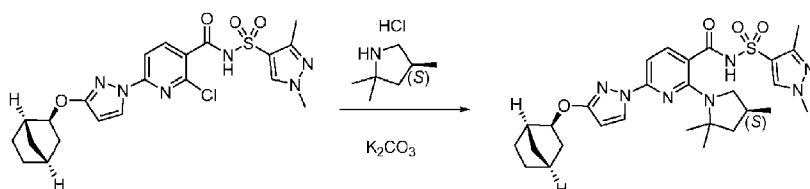
2-Cloro-6-[3-[(1S,2S,4R)-norbornan-2-il]oxipirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *terț*-butil (1,814 g, 4,653 mmol) și TFA (5 mL, 64,90 mmol) s-au combinat în diclorometan (18,14 mL) și s-au încălzit la 40 °C timp de 2 ore. Masa de reacție a fost evaporată. S-au adăugat hexani și amestecul s-a evaporat din nou pentru a da un solid alb care a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară. Acid 2-cloro-6-[3-[(1S,2S,4R)-norbornan-2-il]oxipirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (1,47 g, 79%) ESI-MS *m/z* calc. 333,088, găsit 334,2 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,71 minute.

Etapă 5: 2-Cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(1S,2S,4R)-norbornan-2-il]oxipirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă



Acid 2-cloro-6-[3-[(1S,2S,4R)-norbornan-2-il]oxipirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (100 mg, 0,2487 mmol) și CDI (aproximativ 52,42 mg, 0,3233 mmol) s-au combinat în THF (aproximativ 415,4 μL) și s-au agitat timp de 2 ore la temperatura camerei. Apoi s-au adăugat 1,3-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (58 mg, 0,3310 mmol) și DBU (aproximativ 48,35 μL, 0,3233 mmol), și masa de reacție a fost agitată încă 2 ore la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost apoi turnat în 20 mL acid citric 1 M și extras cu acetat de etil 3 x 20 mL. Organicele combinate au fost spălate cu apă, apoi saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și concentrate pentru a da produs brut (impurități substanțiale, dar utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară) 2-cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(1S,2S,4R)-norbornan-2-il]oxipirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă ESI-MS *m/z* calc. 490,12, găsit 491,3 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,75 minute.

Etapă 6: N-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(1S,2S,4R)-norbornan-2-il]oxipirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă



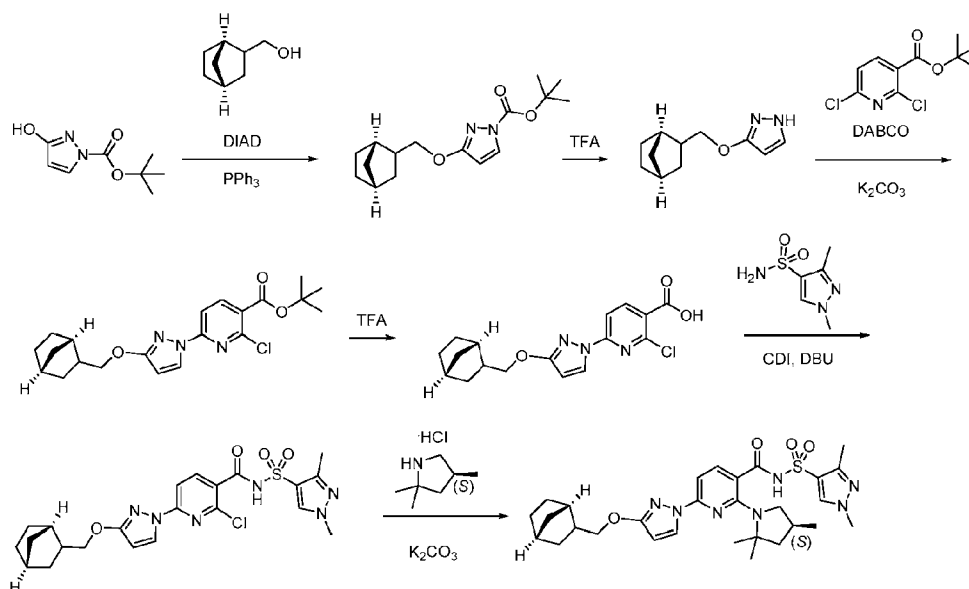
2-Cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(1S,2S,4R)-norbornan-2-il]oxipirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă brută (125 mg, 0,2546 mmol), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (aproximativ 114,3 mg, 0,7638 mmol), și carbonat de potasiu (aproximativ 211,2 mg, 1,528 mmol) s-au combinat în DMSO (aproximativ 0,4243 mL) într-un flacon cu capac cu filet și s-au încălzit la 130 °C timp de 16 ore. Amestecul de reacție a fost apoi răcit la temperatura camerei, și s-au adăugat 3 mL de apă, conducând la formarea unui precipitat. După 30 minute, porțiunea lichidă a fost îndepărtată prin seringă și eliminată, și solidele rămase au fost dizolvate în 15 mL acetat de etil. Organicele au fost spălate cu 15 mL acid citric 1 M, și stratul apos a fost extras suplimentar cu 15 mL acetat de etil. Organicele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană pe silicagel utilizând un gradient de 0-10% metanol în diclorometan. Frațiunile pure au fost combinate și concentrate pentru a da N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(1S,2S,4R)-norbornan-2-il]oxipirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (37 mg, 25%) ESI-MS *m/z* calc. 567,26, găsit 568,3 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,23 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 12,35 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 8,18 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,73 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,89 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,08 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,49 (d, J = 6,7 Hz, 1H), 3,81 (s, 3H), 2,56 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 2,42 (dd, J = 13,7, 6,6 Hz, 2H), 2,32 (s, 3H), 2,29 (d, J = 4,4 Hz,

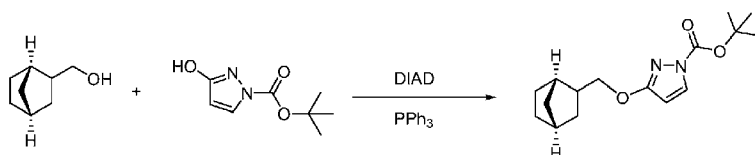
1H), 2,19 (tt, J = 12,1, 6,4 Hz, 1H), 1,91 - 1,78 (m, 2H), 1,59 - 1,38 (m, 11H), 1,20 - 1,11 (m, 3H), 0,81 (d, J = 6,2 Hz, 3H).

Sinteză de N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1S,4R)-norbornan-2-il]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 50)

5



Etapa 1: 3-[[1S,4R)-Norbornan-2-il]metoxi]pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil



10

3-Hidroxi-pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (1,327 g, 7,204 mmol), [(1S,4R)-norbornan-2-il]metanol (1 g, 7,924 mmol) (amestec de endo și exo), și trifenil fosfină (2,09 g, 7,968 mmol) s-au combinat în THF (17,87 mL), și masa de reacție a fost răcită într-o baie de gheață. La amestec s-a adăugat în picătură DIAD (1,627 mL, 8,263 mmol) și masa de reacție a fost lăsată să se încălzească la temperatura camerei și agitată timp de 72 h. Amestecul a fost evaporat, și materialul rezultat a fost partiționat între acetat de etil (50 mL) și hidroxid de sodiu 1 N (50 mL). Organicele au fost separate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și evaporate. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluand cu acetat de etil 0-30% în hexani pentru a da 3-[[1S,4R)-norbornan-2-il]metoxi]pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (1,698 g, 81%) ESI-MS m/z calc. 292,17868, găsit 293,3 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,77 minute. (2 diastereomeri – amestec de norbornan endo și exo substituit)

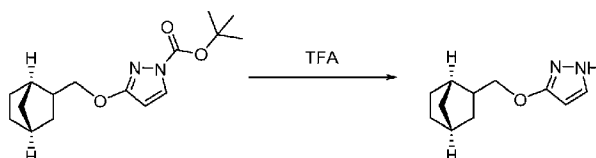
15

20

¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 8,06 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 6,10 (dd, J = 2,9, 1,0 Hz, 1H), 4,23 - 3,81 (m, 2H), 2,29 - 2,15 (m, 2H), 1,69 (dq, J = 12,1, 4,2 Hz, 1H), 1,54 (d, J = 1,4 Hz, 9H), 1,51 - 1,03 (m, 7H), 0,75 (dd, J = 5,0, 2,4 Hz, 1H).

25

Etapa 2: 3-[[1S,4R)-Norbornan-2-il]metoxi]-1H-pirazol

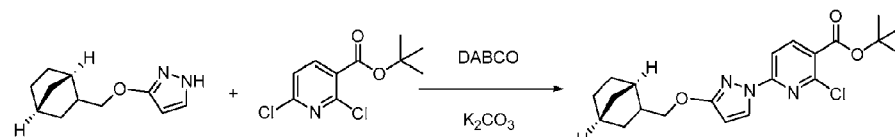


30

3-[[1S,4R)-Norbornan-2-il]metoxi]pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (1,698 g, 5,808 mmol) a fost dizolvat în diclorometan (16,98 mL) cu acid trifluoroacetic (aproximativ 6,622 g, 4,474 mL, 58,08 mmol), și masa de reacție a fost agitată la temperatura camerei timp de 2 ore. Masa de reacție a fost evaporată, și uleiul rezultat a fost partiționat între acetat de etil (50 mL) și o soluție saturată de bicarbonat de sodiu (30 mL). Organicele au fost separate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate sub vid pentru a da un ulei, 3-[[1S,4R)-norbornan-2-

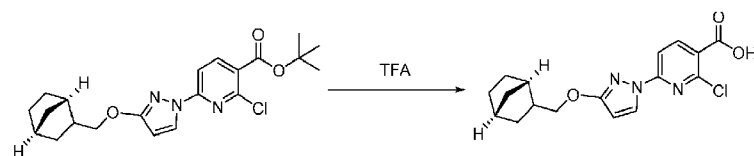
il]metoxi]-1H-pirazol (1,11 g, 99%) ESI-MS m/z calc. 192,12627, găsit 193,2 ($M+1$)⁺; Timp de retenție: 0,52 minute.

Etapă 3: 2-Cloro-6-[3-[[1S,4R)-norbornan-2-il]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *terț*-butil



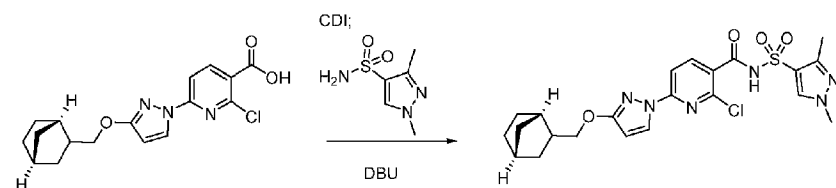
Un balon cu fund rotund a fost încărcat sub azot cu 3-[[1S,4R)-norbornan-2-il]metoxi]-1H-pirazol (1,11 g, 5,774 mmol) (amestec de doi diastereomeri), 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de *terț*-butil (1,433 g, 5,776 mmol), carbonat de potasiu (1,05 g, 7,597 mmol) (proaspăt mărunțit într-un mojar) și s-a adăugat DMF anhidră (10 mL). DABCO (117 mg, 1,043 mmol), și amestecul a fost agitat la temperatura camerei sub azot timp de 16 ore. Amestecul de reacție a fost diluat cu acetat de etil (50 mL) și apă (50 mL), și cele două faze au fost separate. Faza apoasă a fost extrasă suplimentar cu acetat de etil (2 x 30 mL). Extractele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și solventul îndepărtat sub presiune redusă. Materialul a fost supus la flash cromatografie pe silicagel utilizând un gradient de acetat de etil (0 până la 20%) în hexani. Frațiunile pure au fost combinate și solvenții au fost îndepărtați sub presiune redusă pentru a furniza 2-cloro-6-[3-[[1S,4R)-norbornan-2-il]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *terț*-butil (1,88 g, 81%) ESI-MS m/z calc. 403,16626, găsit 404,3 ($M+1$)⁺. Timp de retenție: 0,94 minute

Etapă 4: Acid 2-cloro-6-[3-1[(1S,4R)-norbornan-2-il]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic



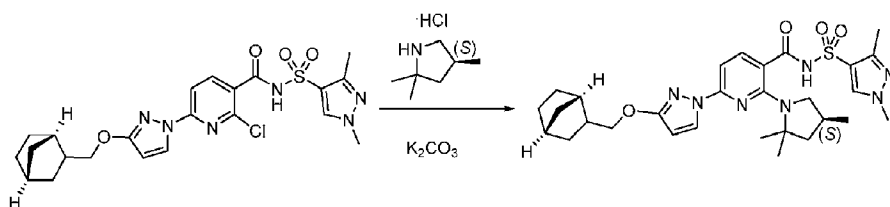
2-Cloro-6-[3-[[1S,4R)-norbornan-2-il]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *terț*-butil (1,88 g, 4,655 mmol) și TFA (5 mL, 64,90 mmol) s-au combinat în diclorometan (18,80 mL) și s-au încălzit la 40 °C timp de 2 ore. Masa de reacție a fost evaporată. S-au adăugat hexani și amestecul s-a evaporat din nou pentru a da un solid alb, acid 2-cloro-6-[3-[[1S,4R)-norbornan-2-il]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (1,58 g, 98%) ESI-MS m/z calc. 347,10367, găsit 348,2 ($M+1$)⁺. Timp de retenție: 0,75 minute.

Etapă 5: 2-Cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1S,4R)-norbornan-2-il]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă



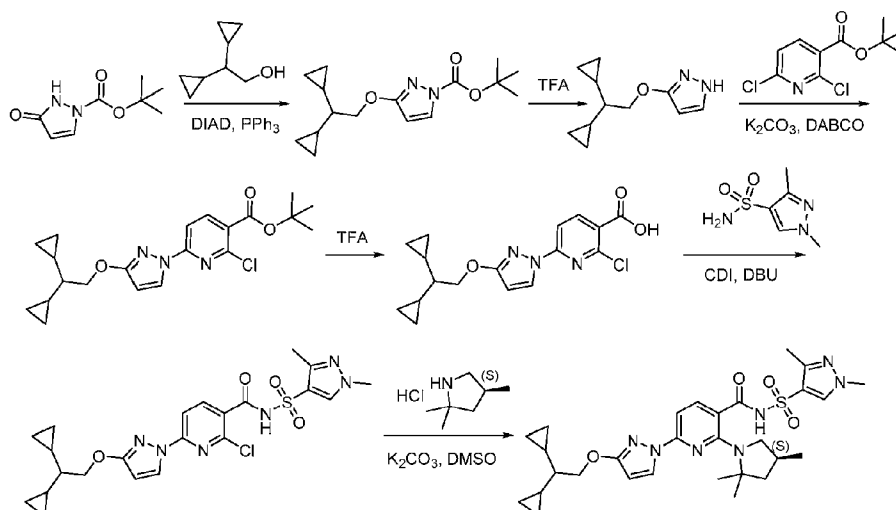
Acid 2-cloro-6-[3-[[1S,4R)-norbornan-2-il]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (100 mg, 0,2875 mmol) și CDI (60,59 mg, 0,3737 mmol) a fost agitat în THF (0,5 mL) la temperatura camerei timp de 2 ore. Apoi s-a adăugat 1,3-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (56 mg, 0,3196 mmol), urmată de DBU (55,88 μL, 0,3737 mmol), și masa de reacție a fost agitată suplimentar încă 4 ore la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost apoi diluat cu 25 mL acetat de etil și turnat în 25 mL acid citric 1 M, și straturile au fost separate. Stratul apos a fost extras cu încă 25 mL acetat de etil, și organicele combinate au fost spălate cu apă apoi cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și concentrate. Produsul a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară, 2-cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1S,4R)-norbornan-2-il]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (138 mg, 95%) (amestec de stereoisomeri exo și endo norbornan) ESI-MS m/z calc. 504,13, găsit 505,3 ($M+1$)⁺; Timp de retenție: 0,78 minute.

Etapă 6: N-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[1S,4R)-norbornan-2-il]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă

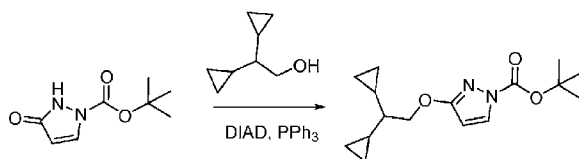


- 2-Cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[[(1S,4R)-norbornan-2-il]metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (138 mg, 0,2733 mmol), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (122,7 mg, 0,8199 mmol), și carbonat de potasiu (226,7 mg, 1,640 mmol) s-au combinat în DMSO (0,4555 mL) într-un flacon cu capac cu filet și s-au încălzit la 130 °C timp de 16 ore. Amestecul de reacție a fost apoi răcit la temperatura camerei, și s-a adăugat 3 mL de apă, conducând la formarea unui precipitat. După 30 minute, porțiunea lichidă a fost îndepărtată prin seringă și eliminată, și solidele rămase au fost dizolvate în 15 mL acetat de etil și spălate cu 15 mL acid citric 1 M. Stratul apos a fost extras suplimentar cu 15 mL acetat de etil. Organicele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană pe silicagel utilizând un gradient de metanol 0-10% în diclorometan. Frațiunile pure au fost combinate și concentrate pentru a da N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[[[(1S,4R)-norbornan-2-il]metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (101 mg, 63%) (amestec de stereozomeri exo și endo norbornan) ESI-MS m/z calc. 581,28, găsit 582,4 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,32 minute.

Sinteză de 6-[3-(2,2-diciclopropiletoxi)pirazol-1-il]-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 32)



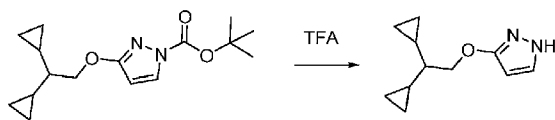
- Etapa 1: 3-(2,2-Diciclopropiletoxi) pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil**



- O soluție de 2,2-diciclopropiletanol (500 mg, 3,962 mmol), 3-hidroxipirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (730 mg, 3,963 mmol), și trifenilfosfan (1,1 g, 4,194 mmol) în THF uscat (20,0 mL) a fost răcită într-o baie de gheață, și s-a adăugat încet DIAD (800,0 μL, 4,063 mmol), sub atmosferă de azot. Masa de reacție a fost lăsată să se încălzească încet la temperatura camerei și a fost agitată timp de 16 h. Amestecul de reacție a fost diluat cu acetat de etil, spălat cu bicarbonat de sodiu apos saturat, saramură, uscat pe sulfat de sodiu, și concentrat. Reziduul a fost purificat prin cromatografie pe silicagel cu 100% hexani până la 50% acetat de etil în hexani pentru a da 3-(2,2-diciclopropiletoxi)pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (783 mg, 68%) ca ulei incolor. ESI-MS m/z calc. 292,17868, găsit 293,3 (M+1)⁺; Timp de retenție: 1,98 minute.

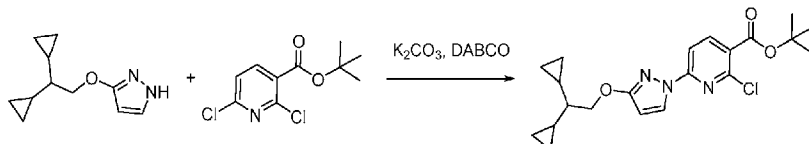
¹H RMN (400 MHz, Cloroform-d) δ 7,62 (d, J = 3,0 Hz, 1H), 5,67 (s, 1H), 4,13 (d, J = 5,3 Hz, 2H), 1,44 (s, 9H), 0,58 (qt, J = 8,2, 5,0 Hz, 2H), 0,36 (tt, J = 8,9, 5,6 Hz, 1H), 0,32 - 0,12 (m, 4H), 0,10 - 0,08 (m, 4H).

- Etapa 2: 3-(2, 2-Diciclopropiletoxi)-1H-pirazol:**



O soluție de 3-(2, 2-diciclopropiletoxi) pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (750 mg, 2,565 mmol) și acid trifluoroacetic (1,0 mL, 12,98 mmol) în diclorometan (4 mL) a fost agitată timp de 2,5 ore. Volatilele au fost îndepărtate sub presiune redusă, și reziduul a fost alcalinizat cu bicarbonat de sodiu apos saturat și extras cu acetat de etil. Extractele combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu și evaporate pentru a da 3-(2,2-diciclopropiletoxi)-1H-pirazol ca ulei incolor care a fost utilizat ca atare fără purificare suplimentară pentru următoarea reacție. ESI-MS m/z calc. 192,12627, găsit 193,3 ($M+1$)⁺; Timp de retenție: 1,32 minute.

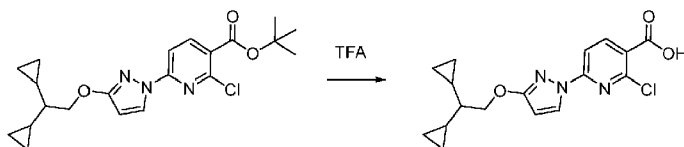
Etapa 3: 2-Cloro-6-[3-(2, 2-diciclopropiletoxi) pirazol-1-il] piridin-3-carboxilat de *terț*-butil



Un amestec de 3-(2,2-diciclopropiletoxi)-1H-pirazol (493,0 mg, 2,564 mmol), 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de *terț*-butil (682,0 mg, 2,749 mmol), carbonat de potasiu (430,0 mg, 3,111 mmol), și 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octan (60 mg, 0,5349 mmol) în DMSO (20,0 mL) a fost agitat la temperatura camerei timp de 15 ore. Masa de reacție a fost diluată cu apă și extrasă cu acetat de etil. Extractele combinate au fost spălate cu saramură și uscate pe sulfat de sodiu și evaporate. Reziduul a fost purificat prin cromatografie pe coloană cu silicagel cu hexani 100% până la 20% acetat de etil în hexani pentru a da 2-cloro-6-[3-(2,2-diciclopropiletoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *terț*-butil (680 mg, 66%) ca ulei incolor. ESI-MS m/z calc. 403,16626, găsit 404,4 ($M+1$)⁺; Timp de retenție: 2,49 minute.

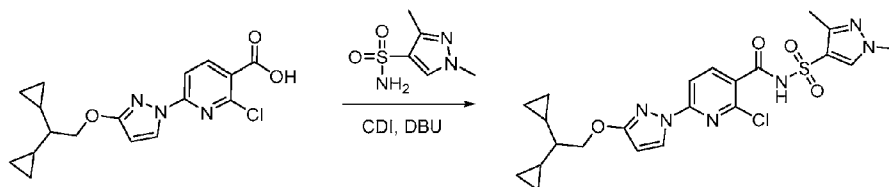
¹H RMN (400 MHz, Cloroform-*d*) δ 8,35 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 8,18 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,70 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 5,98 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 4,32 (d, J = 5,6 Hz, 2H), 1,61 (s, 9H), 0,92 - 0,75 (m, 2H), 0,70 - 0,56 (m, 1H), 0,54 - 0,36 (m, 4H), 0,32 - 0,13 (m, 4H).

Etapa 4: Acid 2-cloro-6-[3-(2, 2-diciclopropiletoxi) pirazol-1-il]piridin-3- carboxilic



O soluție de 2-cloro-6-[3-(2,2-diciclopropiletoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *terț*-butil (675 mg, 1,671 mmol) în acid trifluoroacetic (1,5 mL, 19,47 mmol) și diclorometan (4,5 mL) a fost agitată timp 4 ore la temperatura camerei. Solventul a fost evaporat, și reziduul a fost preluat de două ori în THF și concentrat sub vid pentru a da acid 2-cloro-6-[3-(2, 2-diciclopropiletoxi) pirazol-1-il] piridin-3-carboxilic (580 mg, 100%). ESI-MS m/z calc. 347,10367, găsit 348,3 ($M+1$)⁺; Timp de retenție: 1,95 minute.

Etapa 5: 2-Cloro-6-[3-(2,2-diciclopropiletoxi)pirazol-1-il]-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă

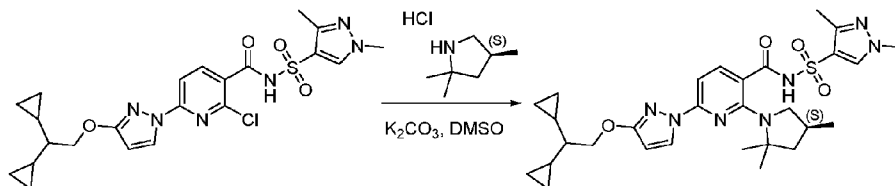


O soluție de acid 2-cloro-6-[3-(2,2-diciclopropiletoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (100 mg, 0,2875 mmol) și carbonil diimidazol (60 mg, 0,3700 mmol) în THF (2 mL) a fost agitată timp de 45 minute. Apoi s-au adăugat 1,3-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (60,0 mg, 0,3424 mmol) și 2,3,4,6,7,8,9,10-octahidropirimido[1,2-*a*]azepină (60 μ L, 0,4012 mmol), și amestecul de reacție a fost agitat timp de încă 2 ore la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost stins cu soluție saturată de clorură de amoniu și extras cu acetat de etil. Extractele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și evaporate pentru a da 2-cloro-6-[3-(2,2-diciclopropiletoxi)pirazol-1-il]-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă care a

fost utilizată ca atare pentru reacția următoare. ESI-MS m/z calc. 504,13464, găsit 505,5 (M+1)+; Timp de retenție: 0,73 minute.

Etapă 6: 6-[3-(2,2-Diciclopropiletoxi)pirazol-1-il]-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă

5



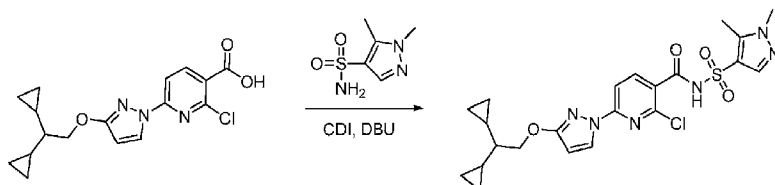
Un amestec de 2-cloro-6-[3-(2,2-diciclopropiletoxi)pirazol-1-il]-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă (140,0 mg, 0,2772 mmol), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (125,0 mg, 0,8352 mmol), și carbonat de potasiu (230,0 mg, 1,664 mmol) în DMSO (2,0 mL) a fost agitat la 130 °C timp de 15 ore. Amestecul de reacție a fost filtrat și purificat utilizând o metodă HPLC cu fază inversă-MS cu rulare cu gradient dual de acetonitril 50-99% în HCl 5 mM pentru a da 6-[3-(2,2-diciclopropiletoxi)pirazol-1-il]-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (50,1 mg, 31%). ESI-MS m/z calc. 581,27844, găsit 582,5 (M+1)+; Timp de retenție: 2,2 minute.

¹H RMN (400 MHz, Cloroform-d) δ 8,32 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 8,22 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,58 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 5,96 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 4,32 (d, J = 5,7 Hz, 2H), 3,86 (s, 3H), 3,48 (dd, J = 10,3, 8,4 Hz, 1H), 3,09 (dd, J = 10,4, 7,7 Hz, 1H), 2,62 (dt, J = 15,7, 7,8 Hz, 1H), 2,46 (s, 3H), 2,13 (dd, J = 12,3, 7,9 Hz, 1H), 1,70 (dd, J = 12,4, 9,5 Hz, 1H), 1,36 (s, 3H), 1,31 (s, 3H), 1,21 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,90 - 0,76 (m, 2H), 0,67 - 0,57 (m, 1H), 0,53 - 0,38 (m, 4H), 0,31 - 0,11 (m, 4H).

6-[3-(2,2-Diciclopropiletoxi)pirazol-1-il]-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 33)

Etapă 1: 2-Cloro-6-[3-(2,2-diciclopropiletoxi)pirazol-1-il]-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă

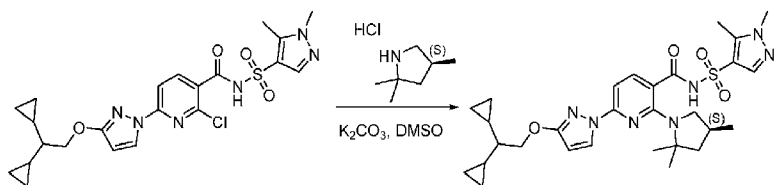
25



O soluție de acid 2-cloro-6-[3-(2,2-diciclopropiletoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (50 mg, 0,1438 mmol) și carbonil diimidazol (30 mg, 0,1850 mmol) în THF (2 mL) a fost agitată timp de 45 minute. Apoi s-au adăugat 1,5-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (30 mg, 0,1712 mmol) și 2,3,4,6,7,8,9,10-octahidropirimido[1,2-a]azepină (30 μ L, 0,2006 mmol), și amestecul de reacție a fost agitat timp de încă 2 ore la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost stins cu soluție saturată de clorură de amoniu și extras cu acetat de etil. Extractele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și evaporate pentru a da 2-cloro-6-[3-(2,2-diciclopropiletoxi)pirazol-1-il]-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă care a fost utilizată ca atare pentru reacția următoare. ESI-MS m/z calc. 504,13464, găsit 505,5 (M+1)+; Timp de retenție: 0,74 minute.

Etapă 2: 6-[3-(2,2-Diciclopropiletoxi)pirazol-1-il]-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă

40



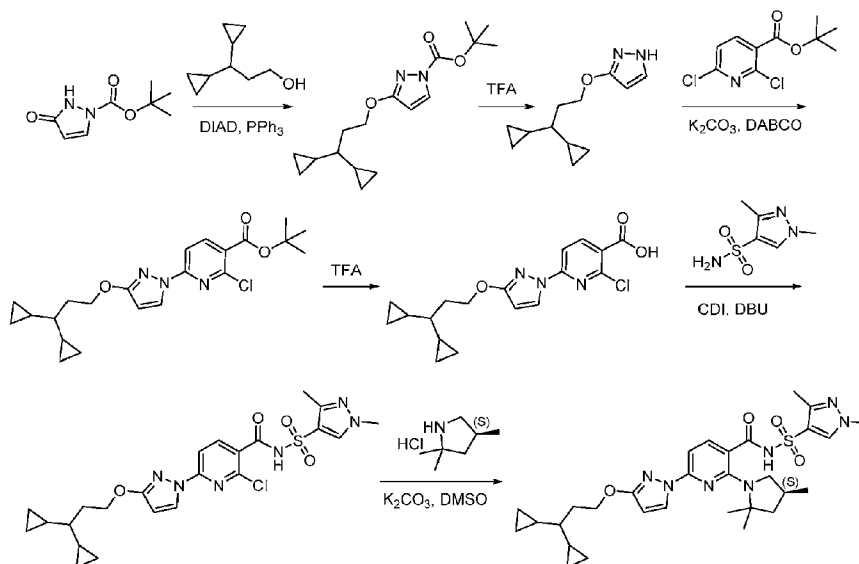
Un amestec de 2-cloro-6-[3-(2,2-diciclopropiletoxi)pirazol-1-il]-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă (72,0 mg, 0,1426 mmol), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (72,0 mg, 0,4811 mmol), și carbonat de potasiu (120,0 mg, 0,8683 mmol) în DMSO (2,0 μ L) a fost agitat la 130 °C timp de 15 ore. Amestecul de reacție a fost filtrat și purificat utilizând o metodă HPLC cu fază inversă-MS cu o rulare cu gradient dual de acetonitril 50-99% în HCl 5 mM pentru a da 6-[3-(2,2-diciclopropiletoxi)pirazol-1-il]-N-(1,5-dimetilpirazol-4-

45

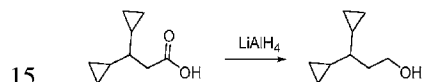
il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (33,6 mg, 41%). ESI-MS m/z calc. 581,27844, găsit 582,5 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,2 minute.

¹H RMN (400 MHz, Cloroform-d) δ 8,32 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 8,22 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,58 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 5,96 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 4,32 (d, J = 5,7 Hz, 2H), 3,86 (s, 3H), 3,48 (dd, J = 10,3, 8,4 Hz, 1H), 3,09 (dd, J = 10,4, 7,7 Hz, 1H), 2,62 (dt, J = 15,7, 7,8 Hz, 1H), 2,46 (s, 3H), 2,13 (dd, J = 12,3, 7,9 Hz, 1H), 1,70 (dd, J = 12,4, 9,5 Hz, 1H), 1,36 (s, 3H), 1,31 (s, 3H), 1,21 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,90 - 0,76 (m, 2H), 0,67 - 0,57 (m, 1H), 0,53 - 0,38 (m, 4H), 0,31 - 0,11 (m, 4H).

Sinteză de 6-[3-(3,3-diciclopropilpropoxi)pirazol-1-il]-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 38)

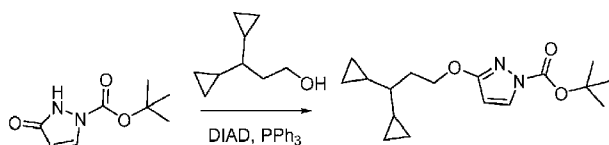


3,3-Diciclopropilpropan-1-ol

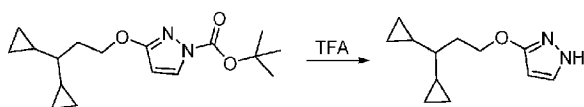


La o soluție de acid 3,3-diciclopropilpropanoic (200 mg, 1,297 mmol) în THF uscat (2,000 mL) s-a adăugat încet, în picături, hidrura de litiu aluminiu (845,0 μL de 2 M, 1,690 mmol) într-o baie de apă/gheață sub atmosferă de azot. Amestecul a fost lăsat să se încălzească treptat la temperatura camerei și agitat timp de 16 ore. Balonul a fost din nou răcit într-o baie de gheață și stins secvențial cu apă (70,0 μL, 3,886 mmol) (încet), urmat de NaOH (70,0 μL de 6 M, 0,4200 mmol), apoi apă (200 μL, 11,10 mmol) rezultând un solid granular alb în amestec. La acest amestec s-a adăugat sulfat de magneziu anhidru și s-a agitat timp de 10 minute. Amestecul heterogen alb rezultat a fost filtrat prin Celite, și precipitatul a fost spălat cu eter. Filtratul a fost concentrat pentru a da 3, 3-diciclopropilpropan-1-ol (140 mg, 77%). ESI-MS m/z calc. 140,12012, găsit 141,2 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,5 minute.

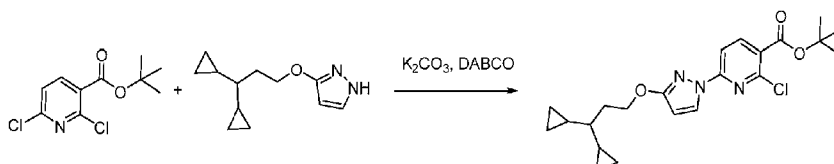
Etapa 1: 3-(3,3-Diciclopropilpropoxi)pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil



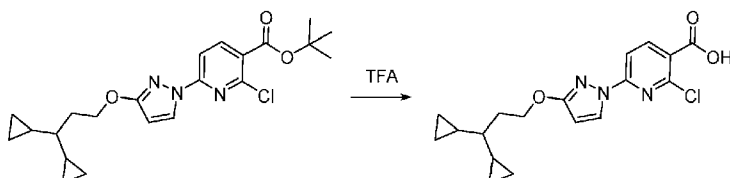
O soluție de 3,3-diciclopropilpropan-1-ol (140,0 mg, 0,9984 mmol), 3-hidroxi-pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (185,0 mg, 1,004 mmol), și trifenilfosfan (278 mg, 1,060 mmol) în THF uscat (7,0 mL) a fost răcită într-o baie de gheață, și s-a adăugat încet DIAD (200,0 μL, 1,016 mmol), sub o atmosferă de azot. Masa de reacție a fost lăsată să se încălzească încet la temperatura camerei și a fost agitată timp de 16 ore. Amestecul de reacție a fost diluat cu acetat de etil, spălat cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu, saramură, uscat pe sulfat de sodiu, și evaporat sub vid. Reziduul a fost purificat prin cromatografie pe silicagel utilizând hexani 100% până la acetat de etil 50% în hexani pentru a da 3-(3,3-diciclopropilpropoxi)pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (255 mg, 83%) ca ulei incolor. ESI-MS m/z calc. 306,19434, găsit 307,4 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,81 minute.

Etapă 2: 3-(3,3-Diciclopropilpropoxi)-1H-pirazol

O soluție de 3-(3, 3-diciclopropilpropoxi) pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (255 mg, 0,8322 mmol) și acid trifluoroacetic (325,0 μ L, 4,218 mmol) în diclorometan (1 mL) a fost agitată timp 2,5 ore. Volatilele au fost îndepărtate sub vid pentru a da 3-(3, 3-diciclopropilpropoxi)-1H-pirazol (sare trifluoroacetat) ca ulei incolor care a fost utilizat ca atare fără purificare suplimentară pentru reacția următoare. ESI-MS m/z calc. 206,1419, găsit 207,2 ($M+1$)⁺; Timp de retenție: 0,59 minute.

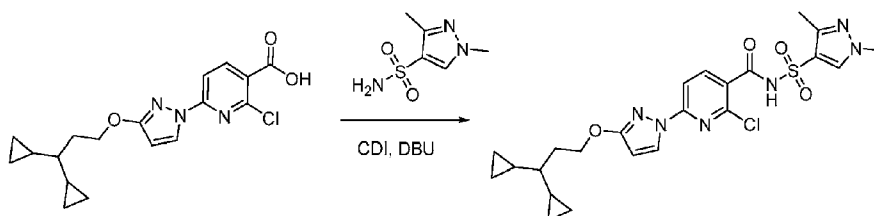
Etapă 3: 2-Cloro-6-[3-(3,3-diciclopropilpropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *terț*-butil

Un amestec de 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de *terț*-butil (220,0 mg, 0,8867 mmol), 3-(3,3-diciclopropilpropoxi)-1H-pirazol (266,0 mg, 0,8305 mmol), carbonat de potasiu (230 mg, 1,664 mmol) și 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octan (20 mg, 0,1783 mmol) în DMSO (10 mL) a fost agitat la temperatura camerei timp de 15 ore. Masa de reacție a fost diluată cu apă și extrasă cu acetat de etil. Extractele organice combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și evaporate. Reziduul a fost purificat prin cromatografie pe coloană cu silicagel utilizând hexani 100% până la acetat de etil 20% în hexani pentru a da 2-cloro-6-[3-(3,3-diciclopropilpropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *terț*-butil (245 mg, 71%) ca ulei incolor. ESI-MS m/z calc. 417,18192, găsit 418,4 ($M+1$)⁺; Timp de retenție: 1,28 minute.

Etapă 4: Acid 2-cloro-6-[3-(3,3-diciclopropilpropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic

O soluție de 2-cloro-6-[3-(3,3-diciclopropilpropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *terț*-butil (245,0 mg, 0,5862 mmol) în acid trifluoroacetic (500,0 μ L, 6,490 mmol) și diclorometan (1,5 mL) a fost agitată timp de 4 ore la temperatura camerei. Solventul a fost evaporat, și reziduul a fost preluat de două ori în THF și concentrat sub vid pentru a da acid 2-cloro-6-[3-(3,3-diciclopropilpropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (204 mg, 96%) ca solid alb care a fost utilizat ca atare pentru reacția următoare. ESI-MS m/z calc. 361,11932, găsit 362,3 ($M+1$)⁺; Timp de retenție: 0,8 minute.

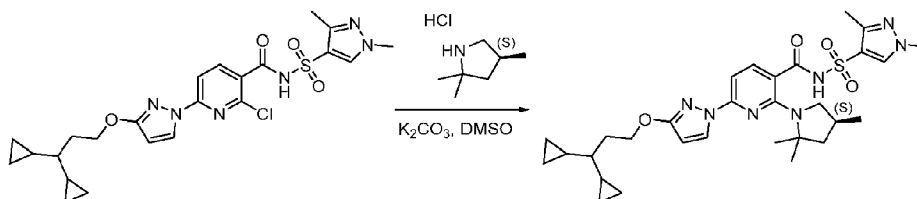
¹H RMN (400 MHz, Metanol-d₄) δ 8,47 - 8,32 (m, 2H), 7,73 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,03 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 4,45 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 1,98 (q, J = 7,0 Hz, 2H), 0,75 - 0,64 (m, 2H), 0,50 - 0,39 (m, 4H), 0,35 - 0,26 (m, 1H), 0,26 - 0,19 (m, 2H), 0,15 - 0,06 (m, 2H).

Etapă 5: 2-Cloro-6-[3-(3,3-diciclopropilpropoxi)pirazol-1-il]-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă

O soluție de acid 2-cloro-6-[3-(3,3-diciclopropilpropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (50 mg, 0,1382 mmol) și carbonil diimidazol (30,0 mg, 0,1850 mmol) în THF (1,000 mL) a fost agitată timp de 45 minute. Apoi s-au adăugat 1,3-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (30,0 mg, 0,1712 mmol) și 2,3,4,6,7,8,9,10-octahidropirimido[1,2-a]azepină (30,0 μ L, 0,2006 mmol), și amestecul de reacție a fost agitat timp de încă 2 ore la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost stins

cu soluție saturată de clorură de amoniu și extras cu acetat de etil. Extractele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și evaporate pentru a da 2-cloro-6-[3-(3,3-diciclopropilpropoxi)pirazol-1-il]-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă (70 mg, 98%) care a fost utilizată ca atare pentru reacția următoare. ESI-MS m/z calc. 518,1503, găsit 519,5 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,78 minute.

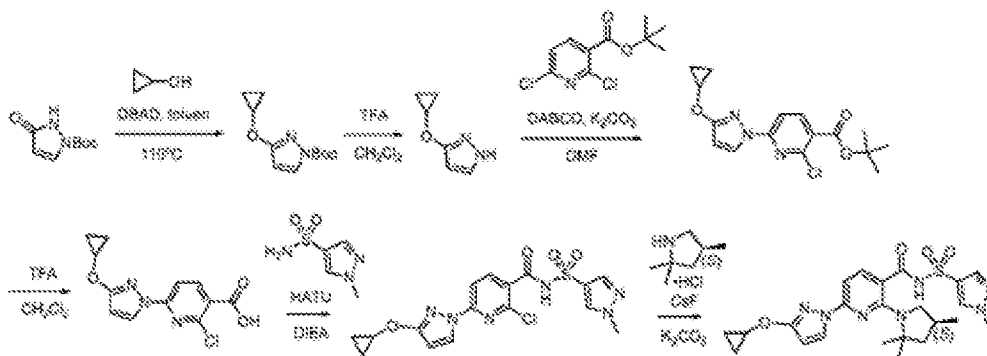
Etapă 6: 6-[3-(3,3-Diciclopropilpropoxi)pirazol-1-il]-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă



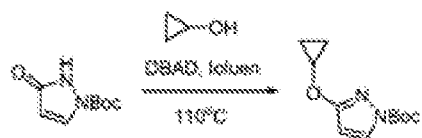
Un amestec de 2-cloro-6-[3-(3,3-diciclopropilpropoxi)pirazol-1-il]-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă (70,0 mg, 0,1349 mmol), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (70,08 mg, 0,4683 mmol), și carbonat de potasiu (112,0 mg, 0,8104 mmol) în DMSO (1 mL) a fost agitat la 130 °C timp de 15 ore. Amestecul de reacție a fost filtrat și purificat utilizând o metodă HPLC cu fază inversă- MS ruland cu un gradient dublu de acetonitril 50-99% in HCl 5 mM pentru a da 6-[3-(3,3-diciclopropilpropoxi)pirazol-1-il]-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (34,7 mg, 43%). ESI-MS m/z calc. 595,29407, găsit 596,6 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,42 minute.

¹H RMN (400 MHz, Cloroform-d) δ 8,34 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 8,22 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,60 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 5,94 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,43 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,86 (s, 3H), 3,49 (dd, J = 10,2, 8,5 Hz, 1H), 3,09 (dd, J = 10,3, 7,6 Hz, 1H), 2,62 (q, J = 7,7 Hz, 1H), 2,47 (s, 3H), 2,13 (dd, J = 12,3, 7,9 Hz, 1H), 1,97 (q, J = 6,8 Hz, 2H), 1,71 (dd, J = 12,4, 9,5 Hz, 1H), 1,36 (s, 3H), 1,31 (s, 3H), 1,21 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,73 - 0,60 (m, 2H), 0,48 - 0,38 (m, 4H), 0,39 - 0,27 (m, 1H), 0,23 - 0,16 (m, 2H), 0,16 - 0,07 (m, 2H).

Sinteză de 6-[3-(Ciclopropoxi)pirazol-1-il]-N-(1-metilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 22)



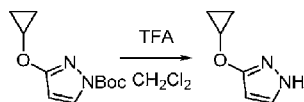
Etapă 1: 3-ciclopropoxi-1H-pirazol-1-carboxilic acid de *tert*-butil



La o soluție de ciclopropanol (30,8 mg, 0,531 mmol), 2,3-dihidro-3-oxopirazol-1-carboxilic acid de *tert*-butil (97,7 mg, 0,531 mmol) și trifenilfosfină (139,3 mg, 0,531 mmol) în toluen anhidru (2 mL) s-a adăugat di-*tert*-butil azodicarboxilic acid (122,2 mg, 0,531 mmol). Soluția a fost purtată cu argon timp de 1 minut, și agitată la temperatura ambiantă timp de 30 minute. Apoi soluția de reacție a fost încălzită la 110 °C timp de încă 5 ore înainte de a fi răcită la temperatura ambiantă. Soluția a fost diluată cu eter (50 mL), spălată cu soluție apoasă de NaOH, saramură, uscată pe sulfat de sodiu, filtrată și concentrată sub presiunea redusă. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel (hexan și acetat de etil, gradient 0 până la 10% acetat de etil) pentru a da 3-ciclopropoxi-1H-pirazol-1-carboxilic acid de *tert*-butil (52 mg, 46%) ca solid alb. ESI-MS m/z calc. 224,116, găsit 225,0 (M+1)⁺; Timp de retenție: 4,38 minute. ¹H RMN (250

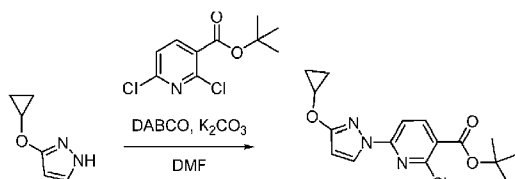
MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7,86 (d, J = 2,8Hz, 1H), 5,93 (d, J = 2,8Hz, 1H), 4,20-4,15 (m, 1H), 1,61 (s, 9H), 0,85-0,72 (m, 4H).

Etapa 2: 3-Ciclopropoxi-1H-pirazol



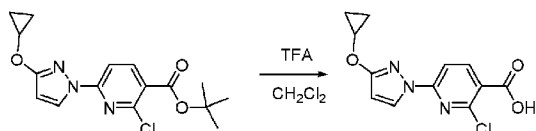
La o soluție de 3-ciclopropoxi-1H-pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (131 mg, 0,584 mmol) în diclorometan (6 mL) s-a adăugat TFA (667 mg, 0,38 mL, 5,84 mmol). Soluția rezultată a fost agitată la temperatura ambiantă timp de 3 ore. Toți solvenții au fost îndepărtați sub presiunea redusă. Reziduul obținut a fost dizolvat în eter (100 mL), spălat cu soluție saturată de bicarbonat de sodiu apoasă, uscat pe sulfat de magneziu, filtrat și concentrat sub presiunea redusă pentru a da 3-ciclopropoxi-1H-pirazol ca ulei galben pal. Produs brut obținut a fost utilizat direct în etapa următoare.

Etapa 3: 2-Cloro-6-(3-ciclopropoxi-1H-pirazol-1-il)piridin-3-carboxilat de *terț*-butil



3-Ciclopropoxi-1H-pirazol brut (73mg, 0,584 mmol), 2,6-dicloro piridin-3-carboxilat de *terț*-butil (159 mg, 0,643 mmol), K₂CO₃ (162mg, 1,17 mmol) și DABCO (13 mg, 0,117 mmol) s-au dizolvat în DMF anhidră (1,5 mL). Soluția de reacție a fost agitată la temperatura ambiantă timp de 16 ore. Soluția de reacție a fost diluată cu eter (100 mL), spălată cu apă (3 x 25 mL) și saramură (25 mL). Straturile organice au fost separate, uscate pe sulfat de magneziu, filtrate și concentrate sub presiunea redusă. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel (hexan și diclorometan, gradient 0 până la 100% diclorometan) pentru a da 2-cloro-6-(3-ciclopropoxi-1H-pirazol-1-il)piridin-3-carboxilat de *terț*-butil (153 mg, 78%) ca ulei lipicios. ESI-MS m/z calc. 335,104, găsit 336,1 (M+1)⁺; Timp de retenție: 6,84 minute.

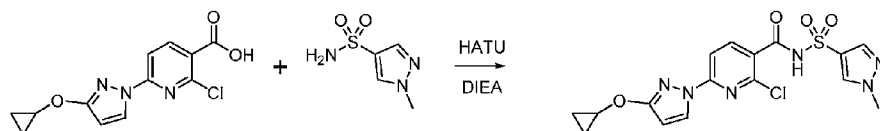
Etapa 4: Acid 2-cloro-6-(3-ciclopropoxi-1H-pirazol-1-il)piridin-3-carboxilic



La o soluție de 2-cloro-6-(3-ciclopropoxi-1H-pirazol-1-il)piridin-3-carboxilat de *terț*-butil (153 mg, 0,456 mmol) în diclorometan (2,2 mL) s-a adăugat TFA (519 mg, 0,35 mL, 4,56 mmol). Soluția rezultată a fost agitată la temperatura ambiantă timp de 48 ore. Apoi s-a adăugat 1,2-dicloroetan (2 mL), și toți solvenții au fost îndepărtați sub presiunea redusă. Solidul alb obținut a fost suspendat în amestec de hexan și eter (10 mL, hexan/eter, 19/1), sonicat, filtrat, spălat cu hexan (10 mL) și uscat pentru a da acid 2-cloro-6-(3-ciclopropoxi-1H-pirazol-1-il)piridin-3-carboxilic (122 mg, 97%) ca solid alb. ESI-MS m/z calc. 279,041, găsit 279,9 (M+1)⁺; Timp de retenție: 4,43 minute.

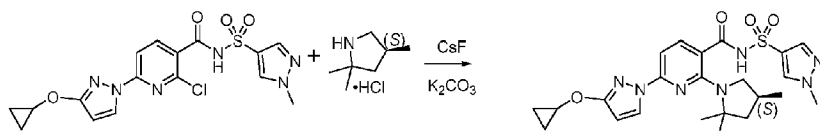
¹H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) 13,6 (s, 1H), 8,43 (d, J = 3,0Hz, 1H), 8,39 (d, J = 8,5Hz, 1H), 7,72 (d, J = 8,5Hz, 1H), 6,28 (d, J = 3,0Hz, 1H), 4,16-4,13 (m, 1H), 0,79-0,71 (m, 4H).

Etapa 5: 2-Cloro-6-[3-(ciclopropoxi)pirazol-1-il]-N-(1-metilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă

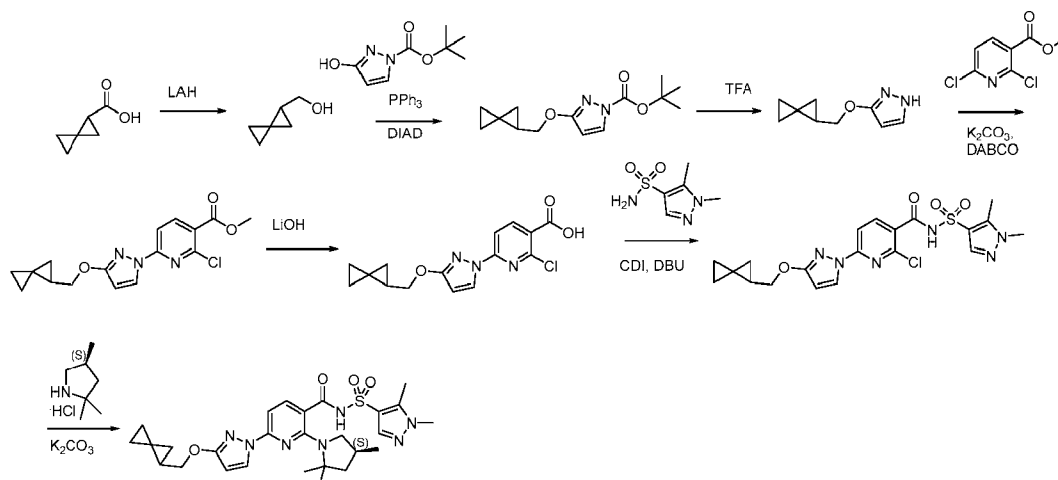


Acid 2-cloro-6-[3-(ciclopropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (25 mg, 0,08939 mmol) în DMF (0,5 mL), 1-metilpirazol-4-sulfonamidă (24 mg, 0,1489 mmol), HATU (70 mg, 0,1841 mmol), și DIEA (32 μ L, 0,1837 mmol) s-au combinat și s-au agitat la temperatura camerei timp de 16 ore. Amestecul de reacție a fost filtrat și purificat pe HPLC cu fază inversă (Waters, HCl, 25-75% ACN-H₂O) pentru a da 2-cloro-6-[3-(ciclopropoxi)pirazol-1-il]-N-(1-metilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă (25 mg). S-a utilizat direct în etapa următoare.

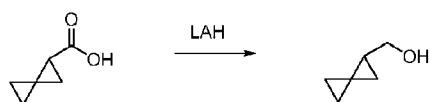
Etapa 6: 6-[3-(Ciclopropoxi)pirazol-1-il]-N-(1-metilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il] piridin-3-carboxamidă



- 5 Un amestec de 2-cloro-6-[3-(ciclopropoxi)pirazol-1-il]-N-(1-metilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă (25 mg), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (20 mg, 0,1336 mmol), fluorură de cesiu (30 mg, 0,1975 mmol), carbonat de potasiu (60 mg, 0,4341 mmol) în DMSO (0,5 mL) a fost agitat la 140 °C timp de 16 ore. Masa de reacție a fost filtrată și purificată pe HPLC cu fază inversă (Waters, HCl, 25-75% ACN-H₂O) pentru a da 6-[3-(ciclopropoxi)pirazol-1-il]-N-(1-metilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (8,3 mg, 18%). ESI-MS m/z calc. 499,20016, găsit 500,0 (M+1)⁺; Timp de retenție: 1,69 minute. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 12,39 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,22 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,74 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,21 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 4,10 (s, 1H), 3,90 (s, 3H), 2,63 (s, 1H), 2,44 (s, 1H), 2,18 (s, 1H), 1,92 - 1,85 (m, 1H), 1,55 (d, J = 17,1 Hz, 6H), 1,44 (t, J = 12,2 Hz, 1H), 0,80 (d, J = 6,2 Hz, 3H), 0,73 (s, 4H).
- 10
- 15 **Sinteză de N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(spiro[2,2]pentan-2-ilmetoxi)pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 26)**



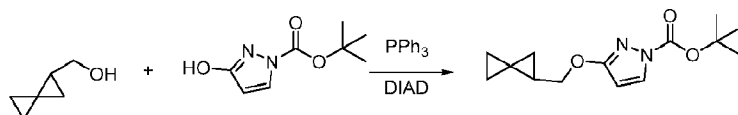
20 **Etapa 1: spiro[2,2]Pent-1-il-metanol**



- 25 La o suspensie de hidruură de litiu aluminiu (888 mg, 23,4 mmol) în tetrahidrofuran (30 mL) s-a adăugat în picătură acid spiro[2,2]pentan-1-carboxilic (1,75g, 15,6 mmol) în tetrahidrofuran (5 mL), în timp de 5 minute. Masa de reacție a fost încălzită la 50 °C timp de 16 ore. Masa de reacție a fost diluată cu dietil eter (20 mL) și stinsă cu sulfat de sodiu decahidrat solid. Amestecul a fost diluat cu dietil eter (100 mL), filtrat prin strat de Celite și concentrat pentru a da spiro[2,2]pent-1-il-metanol (793 mg, 52%) ca un ulei. ESI-MS m/z calc. 98,15 găsit 98,8 (M+1)⁺. Timp de retenție: 2,54 minute.

- 30 ¹H RMN (250 MHz, CDCl₃) ppm 0,58 - 0,89 (m, 4 H) 0,91 - 1,09 (m, 1 H) 1,20 - 1,37 (m, 1 H) 1,43 (m, 1 H) 3,60 (dd, J = 11,98, 6,37 Hz, 2 H)

Etapa 2: Ester *tert*-butilic al acidului 3-(spiro[2,2]pent-1-ilmetoxi)-pirazol-1-carboxilic

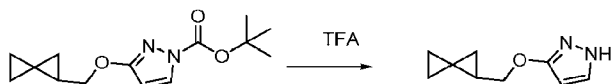


- 35 La o soluție de spiro[2,2]pent-1-il-metanol brut (966 mg, 9,8 mmol) în tetrahidrofuran (40 mL) s-a adăugat trifenil fosfină (2,58 g, 9,8 mmol), ester *tert*-butilic al acidului 3-hidroxi-pirazol-1-carboxilic (1,64 g, 8,9 mmol). Amestecul de reacție a fost răcit într-o baie cu gheață urmată de

adăugare de azodicarboxilat de diizopropil (1,9 mL, 9,8 mmol). Baia cu gheață a fost îndepărtată și masa de reacție a fost agitată timp de 2 ore. Solventul a fost îndepărtat în vid și amestecul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană cu silicagel utilizând hexani-dietil eter 10-20% pentru a da ester *terf*-butilic al acidului 3-(spiro[2,2]pent-1-ilmetoxi)-pirazol-1-carboxilic (1,20 g, 44%)

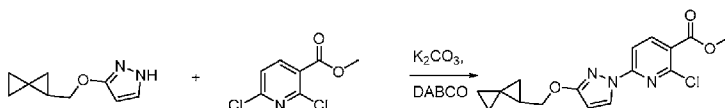
5 ca ulei limpede. ESI-MS *m/z* calc. 264,33 găsit 265,1 (M+1)⁺. Timp de retenție: 3,36 minute

Etapă 3: 3-(spiro[2,2]Pent-1-ilmetoxi)-1H-pirazol



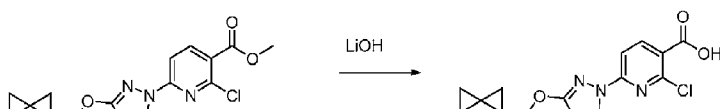
10 La ester *terf*-butilic al acidului 3-(spiro[2,2]pent-1-ilmetoxi)-pirazol-1-carboxilic (1,2 g, 4,54 mmol) s-a adăugat diclorometan (30 mL) și acid trifluoroacetic (3,4 mL, 45 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat timp de 2 ore la temperatura camerei și concentrat la sec în vid. Reziduu a fost azeotropizat de două ori cu 1,2-dicloroetan (15 mL) pentru a da 3-(spiro[2,2]pent-1-ilmetoxi)-1H-pirazol brut (1,87 g, 51%) ca ulei galben. ESI-MS *m/z* calc. 164,09 găsit 164,6 (M+1)⁺. Timp de retenție: 2,11 minute

15 **Etapă 4: Ester metilic al acidului 2-cloro-6-[3-(spiro[2,2]pent-1-ilmetoxi)pirazol-1-il]-nicotinic**



20 La 3-(spiro[2,2]pent-1-ilmetoxi)-1H-pirazol brut (1,87 g, presupus a fi 4,54 mmol) s-a adăugat 2,6-dicloronicotinat de metil (935 mg, 4,54 mmol), 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octan (102 mg, 0,91 mmol), dimetilformamidă (8 mL) și carbonat de potasiu (1,9 g, 13,6 mmol). Masa de reacție a fost agitată timp de 48 ore la temperatura camerei, diluată cu dietil eter (75 mL) și spălată cu apă conținând o cantitate mică de saramură (3 x 50 mL) și saramură (50 mL). Acest strat organic a fost uscat pe sulfat de sodiu și concentrat în vid. Amestecul de reacție brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană cu silicagel utilizând hexani:dietil eter 0-15% pentru a da ester metilic al acidului 2-cloro-6-[3-(spiro[2,2]pent-1-ilmetoxi)pirazol-1-il]-nicotinic (1,02 g, 67%) ca un solid alburiu. ESI-MS *m/z* calc. 333,09 găsit 333,9 (M+1)⁺. Timp de retenție: 3,85 minute.

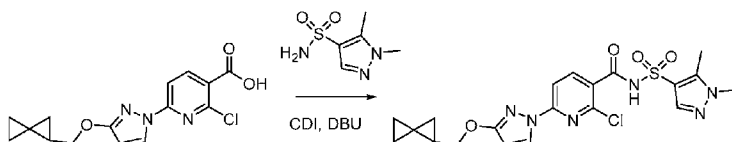
Etapă 5: Acid 2-cloro-6-[3-(spiro[2,2]pent-1-ilmetoxi)-pirazol-1-il]-nicotinic



30 La ester metilic al acidului 2-cloro-6-[3-(spiro[2,2]pent-1-ilmetoxi)pirazol-1-il]-nicotinic (990 mg, 2,97 mmol) s-a adăugat apă (6 mL), metanol (6 mL) și tetrahidrofuran (6 mL) urmat de hidroxid de litiu (285 mg, 11,88 mmol). Masa de reacție a fost agitată timp de 1 oră și s-a adăugat acid clorhidric 1M (12 mL). Solidul alb format a fost separat prin filtrare, spălat cu apă și hexani pentru a da acid 2-cloro-6-[3-(spiro[2,2]pent-1-ilmetoxi)-pirazol-1-il]-nicotinic (927 mg, 98%) ca solid alb. ESI-MS *m/z* calc. 319,07 găsit 320,0 (M+1)⁺. Timp de retenție: 3,25 minute

¹H RMN (250 MHz, CDC13) ppm : 0,76 - 0,88 (m, 5 H), 1,11-1,13 (m, 1 H), 1,60 - 1,75 (m, 1H), 4,22 (dd, J=7,0, 3,3, Hz, 2H) 6,00 (d, J=2,5 Hz, 1H), 7,76 (d, J=8,5 Hz, 1H), 8,38 (d, J=2,5 Hz, 1H), 8,43 (d, J=8,5 Hz, 1H).

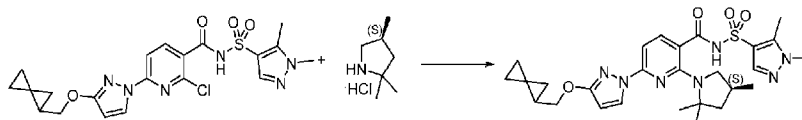
40 **Etapă 6: 2-Cloro-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(spiro[2,2]pentan-2-ilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă**



45 Acid 2-cloro-6-[3-(spiro[2,2]pentan-2-ilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (aproximativ 50 mg, 0,16 mmol) și carbonil diimidazol (aproximativ 38 mg, 0,23 mmol) s-au combinat în THF (1,5 mL) și s-au agitat timp de 1 oră. La acest moment s-a adăugat 1,5-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (aproximativ 28 mg, 0,16 mmol) urmată de DBU (aproximativ 70 μL, 0,47 mmol) și masa de reacție a fost agitată timp de încă 3 h la temperatura camerei. Masa de reacție a fost diluată cu acetat de etil și spălată cu o soluție de acid citric 1M, urmată de saramură. Organicele au fost separate, uscate pe sulfat de sodiu, și evaporate. Materialul brut a fost utilizat

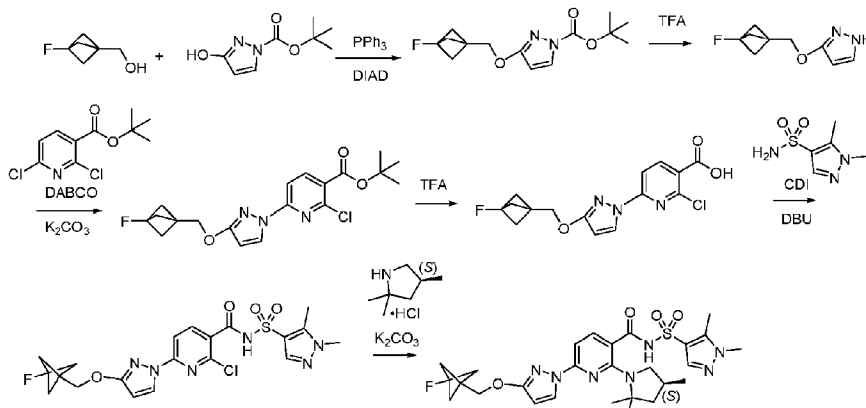
fără purificare suplimentară. 2-Cloro-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(spiro[2,2]pentan-2-ilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (75 mg, 98%) ESI-MS m/z calc. 476,10336, găsit 477,2 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,67 minute.

5 Etapa 7: N-(1,5-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(spiro[2,2]pentan-2-ilmetoxi)pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă

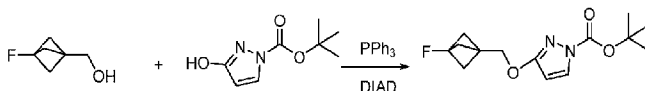


2-Cloro-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(spiro[2,2]pentan-2-ilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (75 mg, 0,16 mmol), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (Sare clorhidrat) (aproximativ 70,63 mg, 0,4719 mmol), și carbonat de potasiu (aproximativ 108,7 mg, 0,7865 mmol) s-au combinat în DMSO (1 mL) și s-au încălzit la 130 °C timp de 16 h. Masa de reacție a fost diluată cu apă (3mL) și agitată timp de 20 min. S-a format un solid și lichidul apos a fost decantat. Solidul a fost dizolvat în acetat de etil și spălat cu o soluție de acid citric 1M, apoi saramură. Organicele au fost uscate pe sulfat de sodiu și evaporate. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluand cu 0-10% metanol în diclorometan pentru a da N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(spiro[2,2]pentan-2-ilmetoxi)pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (35 mg, 40,19%). ESI-MS m/z calc. 553,24713, găsit 554,3 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,07 minute.

20 Sinteză de N-(1,5-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(3-fluoro-1-biciclo[1,1,1]pentanil)metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 27)

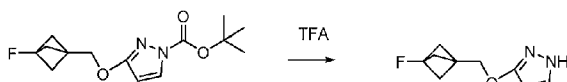


25 Etapa 1: 3-[(3-Fluoro-1-biciclo[1,1,1]pentanil)metoxi]pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil



O soluție de 3-(3-fluoro-1-biciclo[1,1,1]pentanil)metanol (0,27 g, 2,3 mmol), 3-hidroxi-pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (0,46 g, 2,5 mmol), și trifenil fosfină (0,67 g, 2,6 mmol) în THF (12 mL) a fost răcită într-o baie de gheață, și s-a adăugat încet N-izopropoxicarboniliminocarbamat de izopropil (0,50 mL, 2,6 mmol). Masa de reacție a fost lăsată să se încălzească încet la temperatura camerei și a fost agitată timp de trei zile. Aceasta a fost diluată cu acetat de etil, spălată cu bicarbonat de sodiu apos saturat, uscată pe sulfat de sodiu, și evaporată sub vid. Reziduul a fost purificat prin cromatografie pe silicagel cu acetat de etil 0-40% în hexani pentru a da 3-[(3-fluoro-1-biciclo[1,1,1]pentanil)metoxi]pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (0,43 g, 66%) ESI-MS m/z calc. 282,13797, găsit 283,3 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,65 minute.

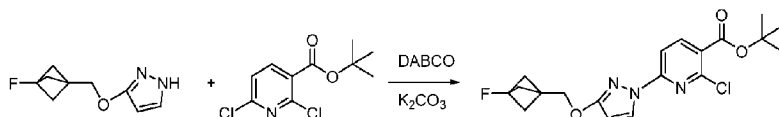
Etapa 2: 3-[(3-Fluoro-1-biciclo[1,1,1]pentanil)metoxi]-1H-pirazol



O soluție de 3-[(3-fluoro-1-biciclo[1,1,1]pentanil)metoxi]pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (0,43 g, 1,523 mmol) și acid trifluoroacetic (587 μ L, 7,62 mmol) în diclorometan (4 mL) a fost agitată timp de 5 ore. Volatilele au fost îndepărtate sub vid, și reziduul a fost alcalinizat cu

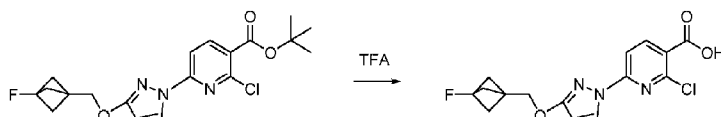
bicarbonat de sodiu apos saturat și extras cu acetat de etil. Extractele combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu și evaporate pentru a da 3-[(3-fluoro-1-biciclo[1,1,1]pentanil)metoxi]-1H-pirazol (0,28 g, 100%) ESI-MS m/z calc. 182,08554, găsit 183,1 ($M+1$)⁺; Timp de retenție: 0,39 minute.

Etapa 3: 2-Cloro-6-[3-[(3-fluoro-1-biciclo[1,1,1]pentanil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *terț*-butil



Un amestec de 3-[(3-fluoro-1-biciclo[1,1,1]pentanil)metoxi]-1H-pirazol (0,28 g, 1,5 mmol), 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de *terț*-butil (0,38 g, 1,5 mmol), carbonat de potasiu (0,26 g, 1,9 mmol), și 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octan (34 mg, 0,30 mmol) în DMSO (7,5 mL) a fost agitat la temperatura camerei timp de 16 h. Masa de reacție a fost diluată cu apă și extrasă cu acetat de etil. Extractele combinate au fost spălate cu saramură și apă, uscate pe sulfat de sodiu, și evaporate. Reziduul a fost purificat prin cromatografie pe silicagel cu metanol 0-5% în diclorometan pentru a da 2-cloro-6-[3-[(3-fluoro-1-biciclo[1,1,1]pentanil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *terț*-butil (0,50 g, 85%) ESI-MS m/z calc. 393,12555, găsit 394,2 ($M+1$)⁺; Timp de retenție: 0,86 minute.

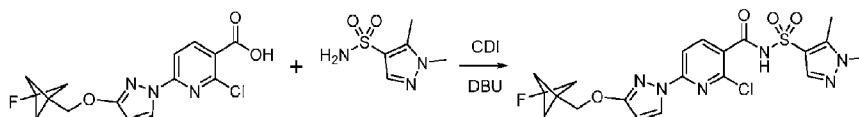
Etapa 4: Acid 2-cloro-6-[3-[(3-fluoro-1-biciclo[1,1,1]pentanil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic



O soluție de 2-cloro-6-[3-[(3-fluoro-1-biciclo[1,1,1]pentanil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *terț*-butil (0,50 g, 1,270 mmol) și acid trifluoroacetic (978 μ L, 12,7 mmol) în diclorometan (6 mL) a fost agitată timp de 15 ore. Solventul a fost evaporat, și reziduul a fost preluat în acetonitril. Solventul a fost evaporat pentru a da acid 2-cloro-6-[3-[(3-fluoro-1-biciclo[1,1,1]pentanil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (0,43 g, 100%) ESI-MS m/z calc. 337,06296, găsit 338,1 ($M+1$)⁺; Timp de retenție: 0,63 minute

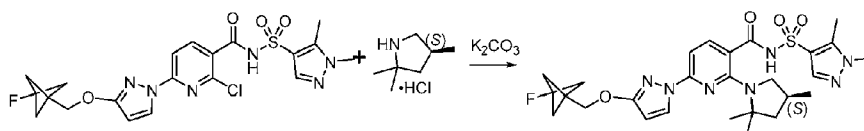
¹H RMN (400 MHz, Cloroform-*d*) δ 8,43 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 8,39 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 7,73 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,00 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 4,51 (s, 2H), 2,13 (d, J = 2,6 Hz, 6H).

Etapa 5: 2-Cloro-*N*-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(3-fluoro-1-biciclo[1,1,1]pentanil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă



O soluție de acid 2-cloro-6-[3-[(3-fluoro-1-biciclo[1,1,1]pentanil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (0,10 g, 0,30 mmol) și carbonil diimidazol (aproximativ 58 mg, 0,36 mmol) în THF (1,5 mL) a fost agitată timp de 30 minute, și s-au adăugat 1,5-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (aproximativ 68 mg, 0,39 mmol) și 2,3,4,6,7,8,9,10-octahidropirimido[1,2-*a*]azepină (aproximativ 55 mg, 54 μ L, 0,36 mmol). După 16 ore masa de reacție a fost diluată cu acid citric apos 1 M și extrasă cu acetat de etil. Extractele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și evaporate pentru a da 2-cloro-*N*-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(3-fluoro-1-biciclo[1,1,1]pentanil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (0,18 g). Materialul a fost preluat la etapa următoare ca atare.

Etapa 6: *N*-(1,5-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(3-fluoro-1-biciclo[1,1,1]pentanil)metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă

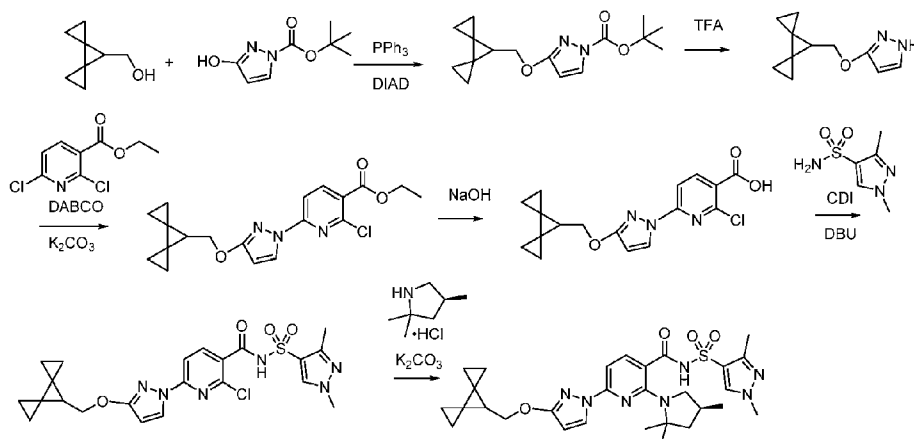


Un amestec de 2-cloro-*N*-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(3-fluoro-1-biciclo[1,1,1]pentanil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă brută (0,15 g, 0,3031 mmol),

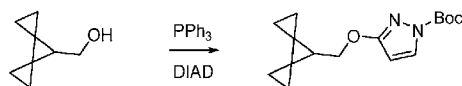
(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (aproximativ 136,1 mg, 0,9093 mmol), și carbonat de potasiu (aproximativ 251,4 mg, 1,819 mmol) în DMSO (1,515 mL) a fost agitat la 130 °C timp de 15 ore. Masa de reacție a fost filtrată și purificată prin HPLC cu fază inversă-MS (30%-99% acetonitril/apă (HCl 5 mM)) pentru a da *N*-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[(3-fluoro-1-biciclo[1,1,1]pentanil)metoxi]pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (51 mg, 29%) ca solid incolor. ESI-MS *m/z* calc. 571,23773, găsit 572,4 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 2,01 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,20 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,72 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,14 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 4,47 (s, 2H), 3,78 (s, 3H), 2,60 - 2,54 (m, 1H), 2,53 (s, 3H), 2,46 - 2,37 (m, 1H), 2,25 - 2,12 (m, 1H), 2,08 (d, *J* = 2,8 Hz, 6H), 1,87 (dd, *J* = 11,8, 5,5 Hz, 1H), 1,55 (d, *J* = 15,0 Hz, 6H), 1,43 (t, *J* = 12,1 Hz, 1H), 0,80 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H).

Sinteză de (S)-*N*-((1,3-Dimetil-1*H*-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-(dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilmetoxi)-1*H*-pirazol-1-il)-2-(2,2,4-trimetilpirolidin-1-il)nicotinamidă (Compusul 28)

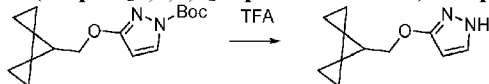


Etapa 1: 3-(dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilmetoxi)-1*H*-pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil



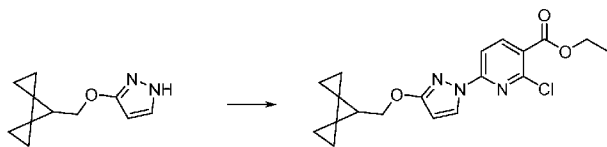
O soluție de dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilmetanol (1,36 g, 11,0 mmol) (Meijere, et al., Eur. J. Org. Chem. 2002, 485-492), 3-hidroxipirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (2,3 g, 12 mmol), și trifenil fosfină (3,2 g, 12 mmol) în THF (28 mL) a fost răcită într-o baie de gheață, și s-a adăugat încet azodicarboxilat de diizopropil (DIAD) (2,4 mL, 12 mmol). Baia de răcire a fost îndepărtată, și masa de reacție a fost agitată timp de 15 ore. Masa de reacție a fost diluată cu acetat de etil, spălată cu bicarbonat de sodiu apos saturat, uscată pe sulfat de sodiu, și evaporată sub vid. Reziduul a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluand cu acetat de etil 0-20% în hexani pentru a da 3-(dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilmetoxi)-1*H*-pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (1,57 g, randament 49%) ca ulei incolor. ESI-MS *m/z* calc. 290,16306, găsit 291,3 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 0,76 minute.

Etapa 2: 3-(Dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilmetoxi)-1*H*-pirazol



O soluție de 3-(dispiro[2,0,2,1]heptan-7-il metoxi)-1*H*-pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (1,57 g, 5,41 mmol) și acid trifluoroacetic (2,2 mL, 29 mmol) în diclorometan (20 mL) a fost agitată timp de trei ore. Volatilele au fost îndepărtate sub vid, și reziduul a fost alcalinizat cu bicarbonat de sodiu apos saturat și extras cu acetat de etil. Extractele combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu și evaporate pentru a da 3-(dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilmetoxi)-1*H*-pirazol (0,94 g, randament 91%) ca ulei galben pal. ESI-MS *m/z* calc. 190,11061, găsit 191,1 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 0,52 minute

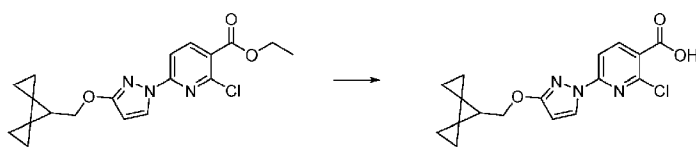
Etapa 3: 2-Cloro-6-(3-(dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilmetoxi)-1*H*-pirazol-1-il)nicotinat de etil



Un amestec de 3-(dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilmetoxi)-1*H*-pirazol (0,94 g, 4,9 mmol), 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de etil (1,15 g, 5,23 mmol), carbonat de potasiu (0,83 g, 6,0 mmol), și 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octan (0,12 g, 1,1 mmol) în DMSO (16 mL) a fost agitat timp de 24 ore. Masa de reacție a fost diluată cu apă și extrasă cu acetat de etil. Extractele combinate au fost spălate cu saramură și apă, uscate pe sulfat de sodiu, și evaporate sub vid. Reziduul a fost purificat prin cromatografie pe coloană cu silicagel eluând cu acetat de etil 0-20% în hexani pentru a da 2-cloro-6-(3-(dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilmetoxi)-1*H*-pirazol-1-il)nicotinat de etil (1,39 g, randament 75%) ca solid incolor. ESI-MS *m/z* calc. 373,11932, găsit 374,2 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 0,87 minute.

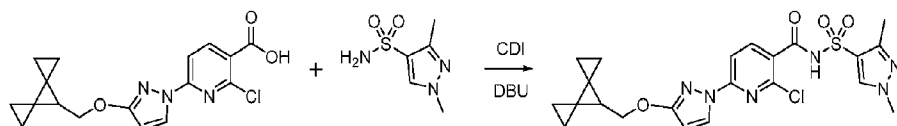
¹H RMN (400 MHz, Cloroform-*d*) δ 8,36 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 8,27 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,72 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 5,96 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 4,41 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H), 4,30 (d, *J* = 7,0 Hz, 2H), 1,94 (t, *J* = 7,0 Hz, 1H), 1,42 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H), 1,02-0,89 (m, 4H), 0,75-0,65 (m, 2H), 0,65-0,53 (m, 2H)

Etapă 4: Acid 2-cloro-6-[3-(dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic



O soluție de 2-cloro-6-(3-(dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilmetoxi)-1*H*-pirazol-1-il)nicotinat de etil (1,39 g, 3,72 mmol) și soluție de hidroxid de sodiu (7,5 mL de 1 M, 7,5 mmol) în THF (6 mL) și etanol (3 mL) a fost agitată timp de 90 de minute. Volatilele au fost îndepărtate sub vid, și s-a adăugat apă. Masa de reacție a fost răcită într-o baie de gheață, și s-a adăugat încet acid clorhidric (7,5 mL soluție de 1 M, 7,5 mmol). Masa de reacție a fost diluată cu apă și extrasă cu acetat de etil. Extractele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și evaporate pentru a da acid 2-cloro-6-[3-(dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (1,16 g, randament 82%) ca solid incolor. ESI-MS *m/z* calc. 345,088, găsit 346,1 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 0,73 minute. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,41 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 8,38 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,73 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,19 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 4,27 (d, *J* = 7,0 Hz, 2H), 1,93 (t, *J* = 7,0 Hz, 1H), 0,97 - 0,79 (m, 4H), 0,76 - 0,66 (m, 2H), 0,65 - 0,56 (m, 2H)

Etapă 5: 2-Cloro-*N*-((1,3-dimetil-1*H*-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-(dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilmetoxi)-1*H*-pirazol-1-il)nicotinamidă

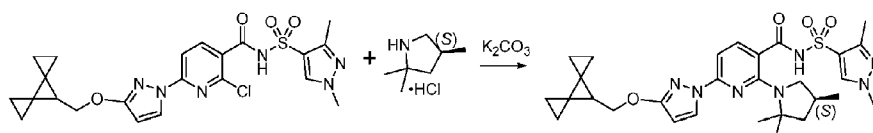


La acid 2-cloro-6-(3-(dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilmetoxi)-1*H*-pirazol-1-il)nicotinic (19,0 g, 54,95 mmol) în THF (250 mL) s-a adăugat încet CDI (11,1 g, 68,5 mmol). Amestecul a fost agitat la temperatura ambiantă timp de două ore. S-a adăugat suplimentar CDI (1,0 g, 6,167 mmol) și s-a agitat timp de o oră. La esterul activat s-a adăugat în porții 1,3-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (12,0 g, 68,5 mmol) urmată de DBU (12,3 mL, 82,2 mmol), și amestecul a fost agitat la temperatura ambiantă timp de o oră. La amestecul de reacție s-a adăugat încet acid citric (61 g, 320 mmol) în apă (500 mL). Amestecul a fost diluat cu EtOAc (1,0 L), și faza apoasă a fost acidulată în plus cu acid clorhidric 1 M, la ~pH 1. Faza organică a fost separată, spălată cu 300 mL de saramură, uscată pe sulfat de magneziu, filtrată pe Celite, și concentrată în vid. Produsul a fost cristalizat utilizând 80 mL EtOH și încălzind. La soluție s-a adăugat 50 mL de apă până la punctul de turbureală. Soluția a fost încălzită până a devenit omogenă și a fost lăsată să stea la temperatura ambiantă timp de 16 ore, rezultând un solid alburiu. La amestec s-a adăugat 200 mL de EtOH apos 50%, și suspensia a fost filtrată. Solidul a fost spălat de două ori cu 200 mL de EtOH apos 50%, uscat în aer timp de trei ore, apoi uscat în vid la 45 °C timp de 24 ore, rezultând un solid alburiu, 2-cloro-*N*-((1,3-dimetil-1*H*-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-(dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilmetoxi)-1*H*-pirazol-1-il)nicotinamidă (25,49 g, 92%). ESI-MS *m/z* calc. 502,119, găsit 503,0 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 1,95 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,73 (s, 1H), 8,41 (s, 1H), 8,39 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 8,08 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,69 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,18 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 4,26 (d, *J* = 7,1 Hz, 2H), 3,84 (s,

3H), 2,35 (s, 3H), 1,92 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 0,95 - 0,84 (m, 4H), 0,76 - 0,65 (m, 2H), 0,65 - 0,54 (m, 2H).

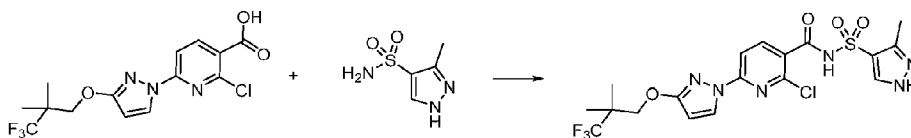
Etapa 6: (S)-N-((1,3-Dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-(dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilmetoxi)-1H-pirazol-1-il)-2-(2,2,4-trimetilpirolidin-1-il)nicotinamidă



La o soluție de 2-cloro-N-((1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-(dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilmetoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinamidă (2,0 g, 3,976 mmol) și (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (2,0 g, 13 mmol) în NMP (10 mL) s-a adăugat carbonat de potasiu (2,9 g, 21 mmol). Suspensia a fost încălzită la 130 °C timp de 20 ore. Masa de reacție a fost răcită la temperatura ambiantă și adăugată încet la o soluție agitată rapid de HCl (7 mL de 6 M, 42,00 mmol) în apă cu gheață (100 mL) rezultând o suspensie albicioasă. Precipitatul a fost colectat și spălat de trei ori cu 10 mL de apă. Solidul a fost uscat în aer timp de o oră. Solidul a fost dizolvat în 50 mL de EtOAc, și apa a fost îndepărtată. Solventul a fost îndepărtat în vid, uleiul dizolvat în acetonitril, și produsul brut a fost cromatografiat pe o coloană ISCO de 415g cu fază inversă eluând cu acetonitril/apă 5-100%. Frațiunile de produs au fost colectate și concentrate in vid rezultând o spumă alb-murdar, (S)-N-((1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-(dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilmetoxi)-1H-pirazol-1-il)-2-(2,2,4-trimetilpirolidin-1-il)nicotinamidă (1,8 g, 75%). ESI-MS m/z calc. 579,26276, găsit 580,1 (M+1)⁺; Timp de retenție: 3,26 minute. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,35 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 8,18 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 7,73 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,10 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 4,23 (d, J = 7,0 Hz, 2H), 3,81 (s, 3H), 2,56 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 2,41 (t, J = 8,6 Hz, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,18 (dq, J = 11,6, 6,1 Hz, 1H), 1,95 - 1,82 (m, 2H), 1,54 (d, J = 11,1 Hz, 6H), 1,42 (t, J = 12,2 Hz, 1H), 0,94 - 0,84 (m, 4H), 0,81 (d, J = 6,2 Hz, 3H), 0,75 - 0,66 (m, 2H), 0,63 - 0,56 (m, 2H).

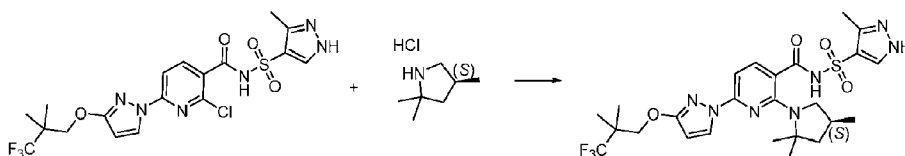
Sinteză de (S)-N-((3-metil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-1-il)-2-(2,2,4-trimetilpirolidin-1-il)nicotinamidă (Compusul 31)

Etapa 1: 2-Cloro-N-[(3-metil-1H-pirazol-4-il)sulfonil]-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă



Acid 2-cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (75 mg, 0,2000 mmol) și carbonil diimidazol (aproximativ 42,16 mg, 0,2600 mmol) s-au combinat în THF (1,5 mL) și s-au agitat timp de 2 ore. La acest moment s-a adăugat 5-metil-1H-pirazol-4-sulfonamidă (aproximativ 32,24 mg, 0,2000 mmol) urmată de DBU (aproximativ 101,4 mg, 99,61 μL, 0,6658 mmol) și masa de reacție a fost agitată timp de încă 2 h la temperatura camerei. Masa de reacție a fost diluată cu acetat de etil și spălată cu o soluție de acid citric 1M, urmată de saramură. Organicele au fost separate, uscate pe sulfat de sodiu, și evaporate. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluand cu metanol 0-10 % în diclorometan pentru a da 2-cloro-N-[(3-metil-1H-pirazol-4-il)sulfonil]-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (70 mg, 69%) ESI-MS m/z calc. 506,07507, găsit 507,1 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,67 minute.

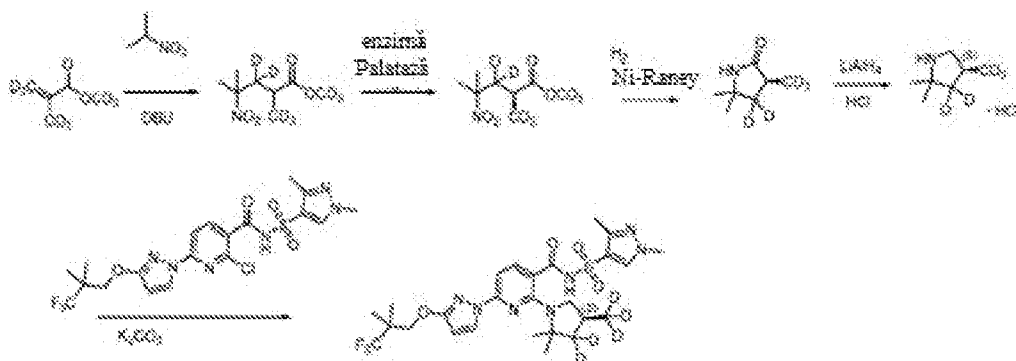
Etapa 2: (S)-N-((3-Metil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-1-il)-2-(2,2,4-trimetilpirolidin-1-il)nicotinamidă



2-Cloro-N-[(3-metil-1H-pirazol-4-il)sulfonil]-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (70 mg, 0,1381 mmol), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (Sare clorhidrat) (aproximativ 62,00 mg, 0,4143 mmol), și carbonat de potasiu (aproximativ 95,43 mg, 0,6905 mmol) s-au combinat în DMSO (1 mL) și s-au încălzit la 130 °C timp de 16 h. Masa de reacție a fost partiționată între acetat de etil și o soluție de acid citric 1M. Organicele au fost

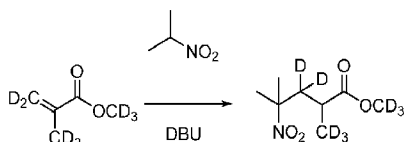
separate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și evaporate. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluand cu metanol 0-10% în diclorometan pentru a da *N*-[(3-metil-1*H*-pirazol-4-il)sulfonil]-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (18 mg, 23%). ESI-MS *m/z* calc. 583,2189, găsit 584,3 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 2,07 minute.

Sinteză de (*S*)-*N*-((1,3-dimetil-1*H*-pirazol-4-il)sulfonil)-2-(2,2-dimetil-4-(metil-*d*₃)pirolidin-1-il-3,3-*d*₂)-6-(3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1*H*-pirazol-1-il)nicotinamidă (Compusul 29)



10

Etapa 1: 4-Metil-2-(metil-*d*₃)-4-nitropentanoat-3,3-*d*₂ de metil-*d*₃



15

Un balon cu fund rotund cu trei gaturi, de 500-mL, echipat cu o bară de agitare magnetică, o linie de azot și un termocuplu J-Kem, cu manta de încălzire, a fost încărcat cu 2-nitropropan (34,3 g, 385 mmol), metacrilat de *d*₈-metil (50,0 g, 460 mmol), și a fost agitat la temperatura ambiantă când s-a adăugat într-o porție 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-enă (DBU, 1,47 g, 9,62 mmol). Soluția reacției exoterme de la 20 până la ~40 °C și a fost lăsată să se agite fără încălzire sau răcire timp de 16 h. Reacția a fost numai parțial completă (HPLC) așa încât soluția a fost încălzită la 80 °C timp de 4 ore. Amestecul de reacție s-a diluat cu MTBE (170 mL), spălat cu HCl 1 M (15 mL), uscat pe sulfat de magneziu, filtrat și concentrat (29" Hg la 60 °C) pentru a îndepărta solventul și orice materii prime reziduale pentru a da produsul ca ulei galben deschis (75 g, 99%). Acesta a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară prin distilare.

20

Etapa 2: (*S*)-4-Metil-2-(metil-*d*₃)-4-nitropentanoat-3,3-*d*₂ de metil-*d*₃



25

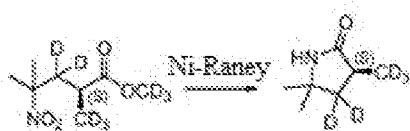
Un balon cu fund rotund cu trei gaturi de 5 L, echipat la partea superioară cu un agitator mecanic, o linie de azot și un termocuplu J-Kem, cu manta de încălzire, a fost încărcat cu 4-metil-2-(metil-*d*₃)-4-nitropentanoat-3,3-*d*₂ de metil-*d*₃ (75 g, 380 mmol) și 2000 mL de tampon pH 7,5 fosfat de Na @ 0,8 M. La acesta s-a adăugat lipază de la Rhizomucor miehei (sigma L4277, palatază de la Novozymes) (0,5 vol) și s-a agitat la 30 °C timp de 25 h. HPLC chirală (ADH 4,6 x250 mm, 5μm, 1,0 mL/min, 98%Heptan/2% IPA) arată un raport al enantiomerilor de 99,8/0,2. Amestecul de reacție a fost extras de două ori cu MTBE (1 L de fiecare dată). Stratul organic a inclus ceva emulsie formată în timpul extracțiilor. Organicile combinate au fost spălate de două ori cu o soluție apoasă de bicarbonat de sodiu (5 vol), saramură (5 vol), uscate pe sulfat de sodiu și concentrate sub vid pentru a da produsul dorit (*S*)-4-metil-2-(metil-*d*₃)-4-nitropentanoat-3,3-*d*₂ de metil-*d*₃ ca ulei galben pal (32,5 g, randament 43%).

30

35

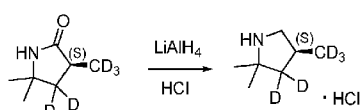
Etapa 3: (*S*)-5,5-Dimetil-3-(metil-*d*₃)pirolidin-2-onă-4,4-*d*₂

40



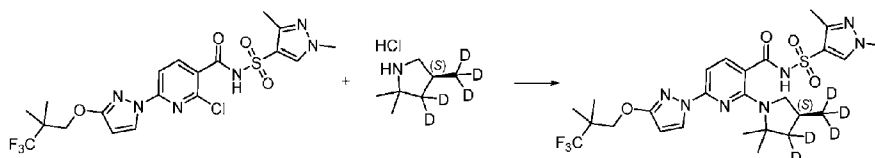
Un vas de presiune ridicată (vas de sticlă cu agitator Parr, 500 mL) a fost purjat cu și menținut sub N₂. Vasul a fost încărcat secvențial cu Ni Raney®2800 umed (6,1 g) clătit cu apă deionizată (de 3 ori), (S)-4-metil-2-(metil-d₃)-4-nitropentanoat-3,3-d₂ de metil-d₃ (32,5 g, 165 mmol), și etanol (290 mL). Vasul a fost etanșat și evacuat/reumplut cu N₂ (de 3 ori) fără agitare, apoi vasul a fost evacuat și reumplut cu H₂ (30 psi). Vasul Parr a fost agitat în timpul încălzirii conținutului până la 60 °C, și presiunea de H₂ a fost menținută la 30 psi timp de 8 ore. Vasul a fost evacuat/reumplut cu N₂ (de 3 ori) și conținutul a fost îndepărtat prin filtrare în vid (strat de Celite; pătură de N₂). Balonul/stratul de filtrare a fost spălat cu etanol (3 x 50 mL). După spălarea finală, turta de filtru umezită cu solvent a fost transferată la un alt recipient și acoperită cu apă pentru a fi eliminată. Notă: Catalizatorul nu trebuie nici un moment să fie complet uscat (păstrați-l umed pe tot parcursul procesului de filtrare). Filtratul și spălările au fost combinate și concentrate (40 °C/40 torr) pentru a da (S)-5,5-dimetil-3-(metil-d₃)-pirolidin-2-onă-4,4-d₂ ca solid alb (20 g, 92%).

Etapă 4: Clorhidrat de (4S)-3,3-dideuterio-2,2-dimetil-4-(trideuteriometil)pirolidină



Un balon cu fund rotund cu trei gaturi de 1 L echipat cu agitator mecanic la partea superioară, o linie de azot și un termocuplu J-Kem a fost încărcat cu granule de hidru de litium aluminu (7,6 g, 202 mmol) în THF (80 mL, 4 vol) încălzit la 20 - 36 °C (căldură de amestecare). La suspensie s-a adăugat o soluție de (S)-5,5-dimetil-3-(metil-d₃)-pirolidin-2-onă-4,4-d₂ (20. g, 150 mmol) în THF (120 mL, 6 vol) în 30 minute permițând ca temperatura reacției să crească la ~60 °C. Temperatura reacției a fost crescută până aproape de reflux (~68 °C) și menținută acolo timp de 16 h. Amestecul de reacție a fost răcit la sub 40 °C și diluat cu 200 mL (10 vol) de MTBE. Amestecul a fost stins încet prin adăugarea în picătură a unei soluții apoase saturate de sulfat de sodiu (1 vol) în timp de 2 h. Notă: se observă o degazare energetică (H₂), amestecul devine gros apoi amestecul se subțiază, și amestecul gri închis devine alb. După ce adăugarea a fost completă, amestecul de reacție a fost răcit la temperatura camerei. Solidul a fost îndepărtat prin filtrare (prin strat de Celite) și spălat cu acetat de etil (4 vol). Cu răcire externă și sub pătură de N₂, filtratul și spălările lui au fost combinate și tratate prin adăugare în picătură de HCl 4 M în dioxan anhidru (38 mL, 152 mmol) în timp ce temperatura s-a menținut sub 20 °C. După ce adăugarea a fost completă (20 minute), suspensia rezultată a fost concentrată sub vid la 45 °C. Suspensia a fost reumplută cu heptani (4 vol) de două ori în timpul concentrării. Suspensia a fost răcită sub 30 °C când solidul a fost colectat prin filtrare sub o pătură de N₂. Solidul a fost uscat sub sucțiune de N₂ și uscat mai departe sub vid înaintat la 45 °C pentru a da clorhidrat de (4S)-3,3-dideuterio-2,2-dimetil-4-(trideuteriometil)pirolidină (17,5 g, 75%). Produsul este foarte higroscopic așa încât a fost manipulat sub azot.

Etapă 5: (S)-N-((1,3-Dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-2-(2,2-dimetil-4-(metil-d₃)-pirolidin-1-il)-3,3-d₂-6-(3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinamidă



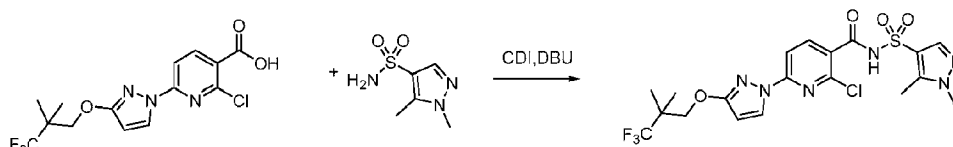
2-Cloro-N-((1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinamidă (2 g, 3,839 mmol) a fost dizolvată în DMSO (10 mL) și 1,2-dietoxietan (2,000 mL). S-au adăugat carbonat de potasiu (aproximativ 2,654 g, 19,20 mmol) și (4S)-3,3-dideuterio-2,2-dimetil-4-(trideuteriometil)pirolidină (Sare clorhidrat) (aproximativ 1,485 g, 9,598 mmol) și suspensia rezultată a fost încălzită la 130 °C timp de 28 h. Amestecul de reacție a fost răcit și turnat sub agitare rapidă în apă cu gheață (60,00 mL) și acid acetic (aproximativ 3,458 g, 3,275 mL, 57,58 mmol). După agitare timp de 20 min solidele au fost separate prin filtrare și spălate cu apă. Solidul rezultat a fost dizolvat în acetat de etil și spălat cu apă, apoi cu saramură. Organicele au fost uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Materialul

rezultat a fost încălzit în heptani și solidul rezultat a fost colectat și uscat pentru a da (*S*)-*N*-((1,3-dimetil-1*H*-pirazol-4-il)sulfonil)-2-(2,2-dimetil-4-(metil-*d*3)pirolidin-1-il-3,3-*d*2)-6-(3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1*H*-pirazol-1-il)nicotinamidă (0,8 g, 35%). ESI-MS *m/z* calc. 602,27, găsit 603,1 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 1,82 minute.

5 **Sinteză de *N*-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 13)**

Etapă 1: 2-Cloro-*N*-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă

10

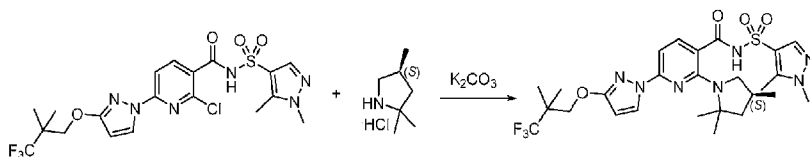


Acid 2-cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3- carboxilic (100 mg, 0,2749 mmol) și carbonildiimidazol (53 mg, 0,3269 mmol) s-au combinat în THF (600,0 μ L) și s-au agitat la temperatura camerei timp de 2 ore. S-a adăugat 1,5-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (53 mg, 0,3025 mmol) urmată de DBU (55 μ L, 0,3678 mmol) și masa de reacție a fost agitată timp de încă 16 h la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost diluat cu 10 mL de acid citric 1 M, și extras cu acetat de etil (3 x 10 mL). Organicele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și concentrate pentru a da un solid alb, care a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară. 2-Cloro-*N*-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (140 mg, 98%) ESI-MS *m/z* calc. 520,09076, găsit 521,1 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 0,68 minute.

20

Etapă 2: *N*-(1,5-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă

25



30

2-Cloro-*N*-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (140 mg, 0,2688 mmol), (4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidină (Sare clorhidrat) (120 mg, 0,8018 mmol), și carbonat de potasiu (224 mg, 1,621 mmol) s-au combinat în DMSO (700,0 μ L) și s-au încălzit la 130 °C timp de 16 h. Masa de reacție a fost răcită la temperatura camerei, și s-a adăugat 1 mL de apă. După agitare 15 minute, conținutul flaconului a fost lăsat să se decanteze, și porțiunea lichidă a fost îndepărtată cu pipeta. Solidele rămase au fost dizolvate cu 20 mL de acetat de etil, apoi spălate cu 15 mL de acid citric 1M. Stratul apos și cel organic au fost separate, și stratul apos a fost extras încă de două ori cu 15 mL acetat de etil. Organicele au fost combinate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Solidul rezultat a fost purificat suplimentar prin cromatografie pe silicagel eluand cu metanol 0-10% în diclorometan pentru a da un solid alb. *N*-(1,5-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (96 mg, 60%) ESI-MS *m/z* calc. 597,2345, găsit 598,3 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 2,1 minute.

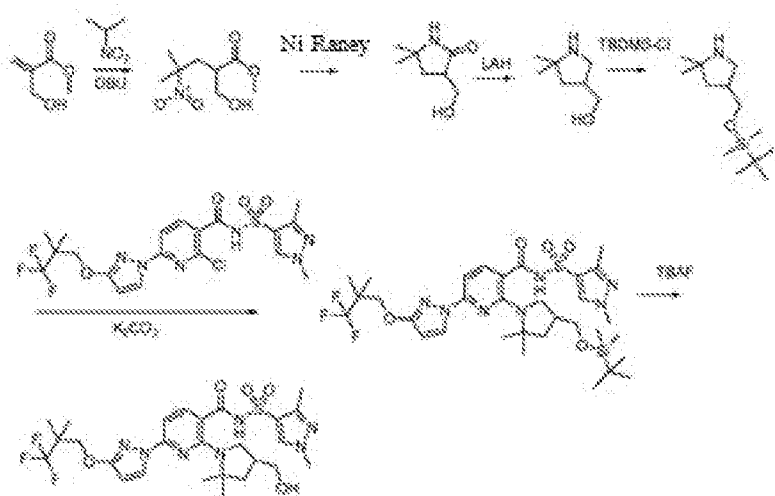
35

¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 12,32 (s, 1H), 8,22 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,73 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,93 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,17 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 4,23 (s, 2H), 3,78 (s, 3H), 2,57 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 2,53 (s, 3H), 2,41 (dd, *J* = 10,3, 7,1 Hz, 1H), 2,17 (dq, *J* = 12,1, 6,0 Hz, 1H), 1,87 (dd, *J* = 11,8, 5,5 Hz, 1H), 1,57 (s, 3H), 1,53 (s, 3H), 1,43 (t, *J* = 12,2 Hz, 1H), 1,23 (s, 6H), 0,80 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H).

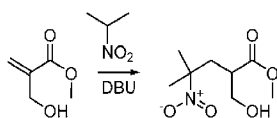
40

Sinteză de *N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[4-(hidroximetil)-2,2-dimetil-pirolidin-1-il]-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 30)

45

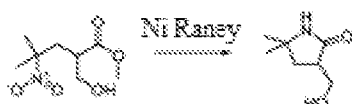


Etapă 1: Ester metilic al acidului 2-hidroxi-4-metil-4-nitro-pentanoic



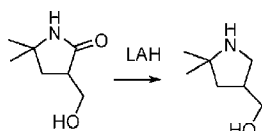
5 1,8-Diazabicyclo[5,4,0]undec-7-enă (3,6 mL, 24 mmol) s-a adăugat la 2-nitropropan (26,5 mL, 292 mmol). Acest amestec a fost încălzit la 65 °C și căldura a fost oprită și s-a adăugat în picătură 2-(hidroximetil)acrilat de metil (25 mL, 243 mmol). Căldura a fost apoi repornită la 80 °C. După încălzire timp de 1h căldura a fost oprită și masa de reacție a fost agitată la temperatura camerei peste noapte înainte de încălzire la 80 °C timp de încă 2h. Masa de reacție a fost diluată cu acetat de etil (250 mL) și spălată cu acid clorhidric 1M (2 x 125 mL), bicarbonat apos (125 mL) și saramură (125 mL). Amestecul produs de reacție a fost cromatografiat pe o coloană de silicagel de 330g în hexani:eter 0-60% eluand la 55-60% pentru a da ester metilic al acidului 2-hidroxi-4-metil-4-nitro-pentanoic (29,68g, 60%) ca ulei verde deschis. ESI-MS m/z calc. 205,21, găsit 206,1 (M+1)⁺. Timp de retenție: 1,67 minute.

15 Etapa 2: 3-Hidroxi-5,5-dimetil-pirolidin-2-onă



20 Ester metilic al acidului 2-hidroxi-4-metil-4-nitro-pentanoic (4,45g, 21,7 mmol) s-a adăugat la etanol absolut (60 mL) urmat de Nichel Raney (1,7g, ~15% în greutate). Masa de reacție a fost încălzită la 60 °C sub 2 bar de H₂, peste noapte. S-a mai adăugat Nichel Raney (1,0g, ~50% în greutate) și masa de reacție s-a încălzit la 60 °C sub 5 bar H₂ timp de 3,5 h. La acest moment, s-a mai adăugat ester metilic al acidului 2-hidroxi-4-metil-4-nitro-pentanoic (3,95g, 19,3 mmol) și masa de reacție s-a încălzit timp de 72 h re-umpland cu H₂ pentru a menține 5 bar. Masa de reacție a fost filtrată prin Celite și spălată cu metanol. Masa de reacție brută a fost cromatografiată pe silicagel și eluată cu 0-10% diclorometan:metanol la 10%, rezultand 3-hidroxi-5,5-dimetil-pirolidin-2-onă (3,69g, 63%) ca solid alb. ¹H RMN (250 MHz, CDCl₃) δ ppm 1,31 (d, J=9,01 Hz, 6 H) 1,72 (dd, J=12,52, 10,33 Hz, 1 H) 2,04 (dd, J=12,58, 8,84 Hz, 1 H) 2,73 - 2,91 (m, 1 H) 3,31 (d, J=4,72 Hz, 1 H) 3,64 - 3,95 (m, 2 H) 5,93 (br. s., 1 H)

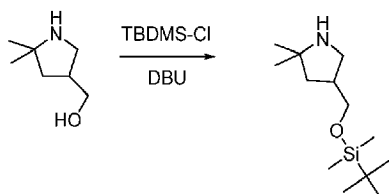
25 Etapa 3: (5,5-Dimetil-pirolidin-3-il)-metanol



30 Hidrură de litiu aluminu (3,90g, 103,00 mmol) a fost suspendată în tetrahidrofuran (60 mL). Apoi s-a adăugat în picătură 3-hidroxi-5,5-dimetil-pirolidin-2-onă (3,69g, 25,77 mmol) în tetrahidrofuran (30 mL) și masa de reacție a fost încălzită la 65°C timp de 40h. Masa de reacție

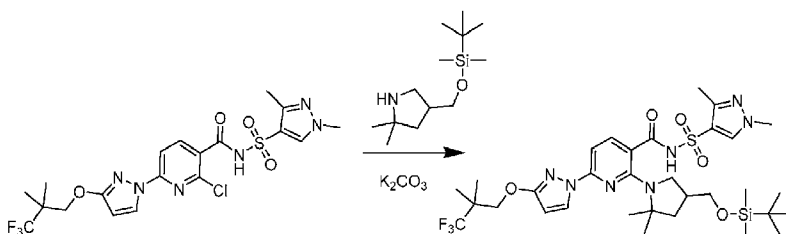
a fost diluată cu 2-metil-tetrahidrofuran (125 mL) și apoi răcită într-o baie cu gheață înainte de a se adăuga în picătură sare Rochelle apoasă saturată (200 mL). Stratul organic a fost extras cu 2-metil-tetrahidrofuran (2 x 200 mL) și uscat pe sulfat de sodiu pentru a da (5,5-dimetil-pirolidin-3-il)-metanol brut (3,47g, 104%). ¹H RMN (250 MHz, CDCl₃) δ ppm 1,06 - 1,24 (m, 6 H) 1,29 (dd, J=12,58, 7,20 Hz, 2 H) 1,43 (s, 1 H) 1,68 - 1,89 (bs, 1 H) 2,31 - 2,52 (m, 1 H) 2,83 (dd, J=11,10, 5,49 Hz, 1 H) 3,05 - 3,26 (m, 1 H) 3,48 - 3,71 (m, 1 H)

Eta pa 4: 4-(*terț*-Butil-dimetil-silaniloximetil)-2,2-dimetil-pirolidină



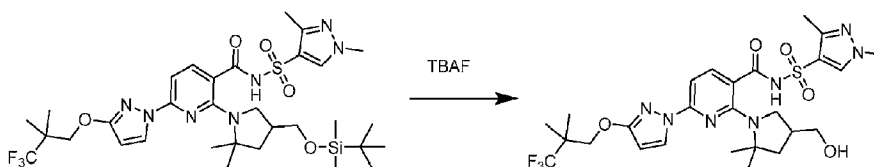
La (5,5-dimetil-pirolidin-3-il)-metanol (3,08g, 23,8 mmol) s-a adăugat clorură de *terț*-butildimetilsilil (4,31g, 28,6 mmol) în acetonitril (24 mL), 1,8-diazabiciclo[5,4,0]undec-7-enă (5,3 mL, 35,7 mmol). Masa de reacție a fost agitată timp de 3,5 h. Masa de reacție a fost diluată cu cloroform (250 mL) și spălată cu apă (125 mL) și saramură (125 mL) apoi uscată pe sulfat de sodiu. Produsul brut a fost cromatografiat pe silicagel și eluat cu diclorometan/metanol, eluând la 15-35% metanol pentru a da 4-(*terț*-butil-dimetil-silaniloximetil)-2,2-dimetil-pirolidină (3,88g, 67%) ca ulei galben după două coloane. ESI-MS m/z calc. 243,47, găsit 244,2 (M+1)⁺ Timp de retenție: 2,52 minute. ¹H RMN (250 MHz, CDCl₃) δ ppm -0,05 - 0,11 (m, 6 H) 0,89 (s, 9 H) 1,19 (d, J=18,02 Hz, 6 H) 1,25 - 1,32 (m, 1 H) 1,74 (dd, J=12,63, 8,79 Hz, 1 H) 1,92 (br. s., 1 H) 2,32 - 2,50 (m, 1 H) 2,81 (dd, J=11,54, 6,37 Hz, 1 H) 3,11 (dd, J=11,48, 7,97 Hz, 1 H) 3,45 - 3,61 (m, 2 H).

Eta pa 5. 2-[4-[[*terț*-Butil(dimetil)silil]oximetil]-2,2-dimetil-pirolidin-1-il]-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă



2-Cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (30 mg, 0,05759 mmol), *terț*-butil-[(5,5-dimetilpirolidin-3-il)metoxi]-dimetil-silan (aproximativ 42,07 mg, 0,1728 mmol), și K₂CO₃ (aproximativ 39,80 mg, 0,2880 mmol) s-au combinat în DMSO (600,0 μL) și s-au încălzit la 130 °C timp de 16 h. Masa de reacție a fost partiționată între o soluție de acid citric 1M și acetat de etil și organicele au fost separate. Organicele au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și evaporate. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluând cu metanol 0-10% în diclorometan pentru a da 2-[4-[[*terț*-butil(dimetil)silil]oximetil]-2,2-dimetil-pirolidin-1-il]-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (19 mg, 45%). ESI-MS m/z calc. 727,3159, găsit 728,4 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,94 minute.

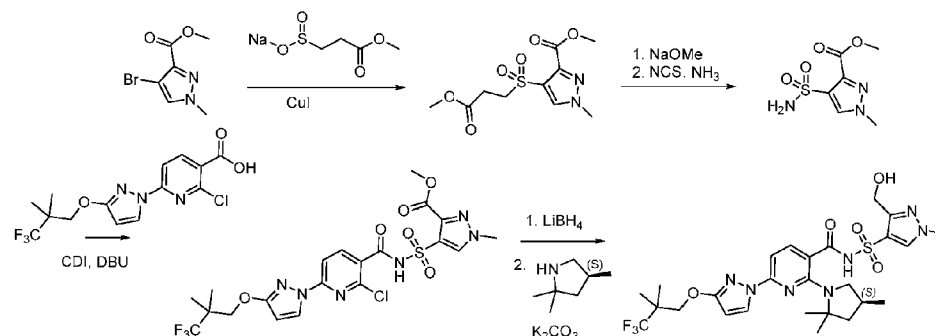
Eta pa 6. N-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[4-(hidroximetil)-2,2-dimetil-pirolidin-1-il]-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă



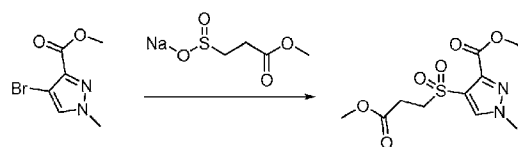
2-[4-[[*terț*-Butil(dimetil)silil]oximetil]-2,2-dimetil-pirolidin-1-il]-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (19 mg) a fost dizolvată în THF (1 mL) și răcită într-o baie de gheață. S-a adăugat TBAF (aproximativ 288,0 μL de 1 M, 0,2880 mmol) și masa de reacție a fost lăsată să se încălzească la temperatura camerei.

Amestecul de reacție a fost agitat timp de 1 oră și apoi partiționat între acetat de etil și soluție de acid citric 1M. Organicele au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și evaporate. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluand cu metanol 0-10% în diclorometan pentru a da N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[4-(hidroximetil)-2,2-dimetilpirolidin-1-il]-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (8,7 mg, 54%). ESI-MS m/z calc. 613,22943, găsit 614,3 (M+1)⁺; Timp de retenție: 1,81 minute.

Sinteză de N-[3-(hidroximetil)-1-metil-pirazol-4-il]sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 39)

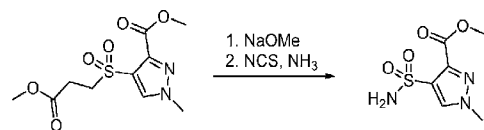


Etapa 1: 4-(3-Metoxi-3-oxo-propil)sulfonil-1-metil-pirazol-3-carboxilat de metil



4-Bromo-1-metil-pirazol-3-carboxilat de metil (508 mg, 2,319 mmol), (3-metoxi-3-oxo-propil)sulfoniloxisodiu (810 mg, 4,651 mmol), și cupru(1+) (ion iodură (1)) (1,31 g, 6,878 mmol) s-au combinat în DMSO degazat (3,048 mL). Prin masa de reacție s-a barbotat azot timp de încă 5 min și apoi aceasta a fost etanșată și încălzită la 80 °C. Masa de reacție a fost încălzită timp de 48 h apoi răcită la temperatura camerei. Masa de reacție a fost diluată cu acetat de etil (25 mL) și NH₄Cl (10 mL). S-a format un precipitat gros care a fost filtrat și eliminat. Straturile au fost separate și organicele au fost spălate cu o soluție saturată de NH₄Cl (30 mL), o soluție saturată de NaHCO₃ (30 mL), și saramură (30 mL). Organicele au fost uscate pe sulfat de sodiu și evaporate. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluand cu acetat de etil 0-100% în hexani pentru a da 4-(3-metoxi-3-oxo-propil)sulfonil-1-metil-pirazol-3-carboxilat de metil (297 mg, 44%) ESI-MS m/z calc. 290,05725, găsit 291,1 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,32 minute.

Etapa 2: 1-Metil-4-sulfamoil-pirazol-3-carboxilat de metil



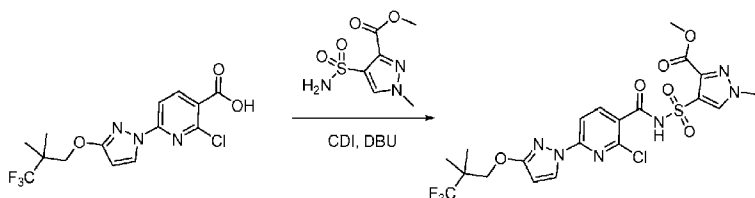
Etapa 1:

4-(3-Metoxi-3-oxo-propil)sulfonil-1-metil-pirazol-3-carboxilat de metil (297 mg, 1,023 mmol) a fost dizolvat în THF (4 mL) și s-a adăugat NaOMe 25% în metanol (220 μL de 25 %m/v, 1,018 mmol). Masa de reacție a fost agitată timp de 5 min și evaporată. S-a adăugat hexan și amestecul s-a evaporat din nou.

Etapa 2:

Produsul din etapa 1 a fost dizolvat în diclorometan (4 mL) și s-a adăugat N-clorosuccinimidă (138 mg, 1,033 mmol). Masa de reacție a fost agitată timp de 30 min. Amestecul de reacție s-a adăugat încet la o soluție de amoniac în metanol (1,5 mL de 7 M, 10,50 mmol) răcită cu baie de gheață și a fost agitat timp de o încă 30 min. Amestecul de reacție a fost partiționat între acetat de etil și apă. Organicele au fost separate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și evaporate. Produsul brut a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară. 1-Metil-4-sulfamoil-pirazol-3-carboxilat de metil (110 mg, 49%) ESI-MS m/z calc. 219,03137, găsit 220,1 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,2 minute.

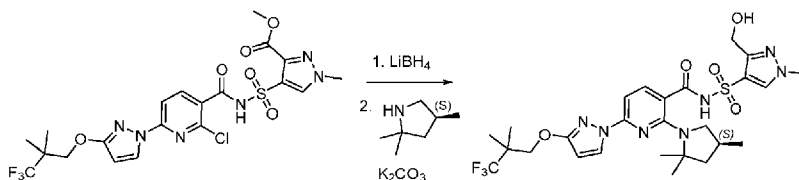
Etapa 3: 4-[[2-Cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carbonil]sulfamoil]-1-metil-pirazol-3-carboxilat de metil



5 Acid 2-cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (aproximativ 186,2 mg, 0,5018 mmol) și carbonil diimidazol (aproximativ 81,37 mg, 0,5018 mmol) s-au combinat în THF (2 mL) și s-au agitat la temperatura camerei timp de 3 ore. La amestecul de reacție s-a adăugat 1-metil-4-sulfamoil-pirazol-3-carboxilat de metil (110 mg, 0,5018 mmol) și DBU (aproximativ 76,39 mg, 75,04 μ L, 0,5018 mmol) și masa de reacție a fost agitată încă 16 h. Amestecul de reacție a fost partiționat între acetat de etil și o soluție de acid citric 1M. Organicele au fost separate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și evaporate. Produsul brut a fost preluat în etapa următoare fără purificare suplimentară.

10 4-[[2-Cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carbonil]sulfamoil]-1-metil-pirazol-3-carboxilat de metil (178 mg, 63%) ESI-MS m/z calc. 564,08057, găsit 565,1 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,67 minute.

Etapa 4. N-[3-(Hidroximetil)-1-metil-pirazol-4-il]sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă



20

Etapa 1:

4-[[2-Cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carbonil]sulfamoil]-1-metil-pirazol-3-carboxilat de metil (145 mg, 0,2567 mmol) a fost dizolvat în borohidruură de litiu (2,0 M în THF) (aproximativ 1,283 mL de 2 M, 2,567 mmol) și agitat timp de 4h. Amestecul de reacție a fost stins cu metanol, apoi partiționat între acetat de etil și o soluție de acid citric 1M. Organicele au fost separate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și evaporate.

25

Etapa 2:

Alcoolul care rezultă din etapa 1 a fost dizolvat în NMP (0,5 mL) cu (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (aproximativ 76,84 mg, 0,5134 mmol) și carbonat de potasiu (aproximativ 106,4 mg, 0,7701 mmol) și masa de reacție a fost încălzită la 130 °C timp de 16 h. Amestecul de reacție a fost partiționat între acetat de etil și o soluție de acid citric 1M. Organicele au fost separate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și evaporate. Amestecul de reacție brut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluând cu metanol 0-10% în diclorometan. Produsul a conținut NMP așa încât produsul a fost purificat suplimentar prin LC/MS utilizând un gradient de acetonitril 10-99% în HCl apos 5 mM. Frațiunea dorită a fost extrasă cu acetat de etil. Organicele au fost separate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și evaporate pentru a da N-[3-(hidroximetil)-1-metil-pirazol-4-il]sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (8 mg, 5%) ESI-MS m/z calc. 613,22943, găsit 614,5 (M+1)⁺; Timp de retenție: 1,96 minute.

35

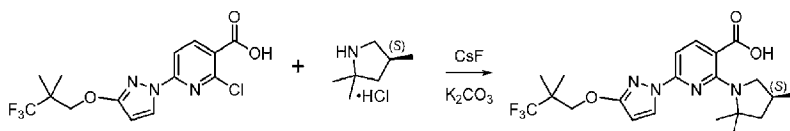
¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,25 (s, 1H), 8,42 (s, 1H), 8,22 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,78 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,91 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,17 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 4,98 (s, 1H), 4,60 (q, J = 13,0 Hz, 2H), 4,23 (s, 2H), 3,85 (s, 3H), 2,56 (t, J = 10,5 Hz, 1H), 2,16 (s, 1H), 1,91 - 1,84 (m, 1H), 1,56 (s, 3H), 1,53 (s, 3H), 1,42 (t, J = 12,1 Hz, 1H), 1,23 (s, 6H), 0,83 (d, J = 6,3 Hz, 3H).

40

Sinteză de (7S)-7,9,9-trimetil-2-(3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-1-il)-6a,7,8,9-tetrahidro-5H-pirido[2,3-d]pirolo[2,1-b][1,3]oxazin-5-onă (Compusul 57)

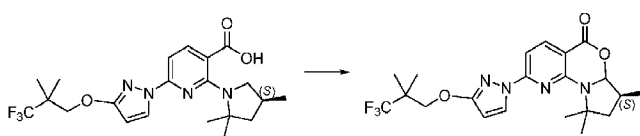
45

Etapa 1: Acid 6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxilic



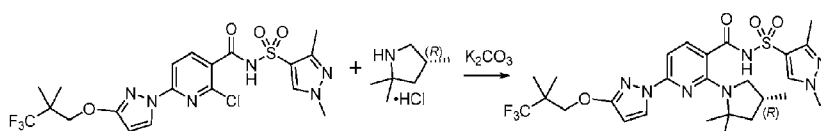
Acid 2-cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3- carboxilic (200 mg, 0,5389 mmol) și fluorură de cesiu (aproximativ 81,86 mg, 0,5389 mmol) s-au combinat in DMSO (2 mL). S-a adăugat (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (aproximativ 242,0 mg, 1,617 mmol) urmată de carbonat de potasiu fin mărunțit (aproximativ 223,5 mg, 1,617 mmol). Amestecul de reacție a fost etanșat și lăsat să se agite peste noapte la 150 °C. Amestecul de reacție a fost diluat cu EtOAc (50 mL) și spălat cu acid citric apos (1 M, 2 × 50 mL) și saramură (1 × 50 mL). Stratul organic a fost uscat pe sulfat de sodiu, filtrat și concentrat sub presiune redusă. Produsul a fost izolat prin cromatografie pe coloană cu silicagel eluând cu un gradient de MeOH/DCM 0-5% în timp de 40 minute pe o coloană cu silicagel de 12 grame. Frațiunile pure au fost combinate și concentrate pentru a furniza acid 6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxilic (154 mg, 65%) ca alb solid care spumează. ESI-MS m/z calc. 440,20352, găsit 441,6 (M+1)+; Timp de retenție: 1,87 minute.

Etapa 2: (7S)-7,9,9-Trimetil-2-(3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-1-il)-6a,7,8,9-tetrahidro-5H-pirido[2,3-d]pirolo[2,1-b][1,3]oxazin-5-onă



Acid 6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxilic (50 mg, 0,1135 mmol), apă (20 μL, 1,110 mmol), acetat de sodiu (19 mg, 0,2316 mmol) și [Ir[dF(CF₃)ppy]₂(dtbpy)]PF₆ (5 mg, 0,004457 mmol) s-au dizolvat in DMA (872 mL). Amestecul de reacție a fost plasat sub o 23 W sursă de lumină fluorescentă compactă timp de cinci ore. Sursa de lumină a emis destulă căldură să se încălzească amestecul de reacție la ~40 °C. Amestecul brut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluand cu gradient de EtOAc/hexan 0-100% pentru a da (7S)-7,9,9-trimetil-2-(3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-1-il)-6a,7,8,9-tetrahidro-5H-pirido[2,3-d]pirolo[2,1-b][1,3]oxazin-5-onă (24,6 mg, 50%). ESI-MS m/z calc. 438,18787, găsit 439,6 (M+1)+; Timp de retenție: 2,27 minute.

Sinteză de N-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-2-[(4R)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 37)



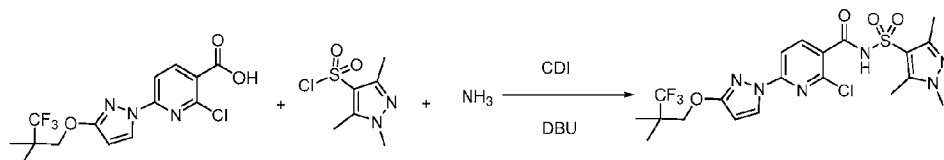
La un amestec de 2-chloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (2 g, 3,839 mmol) și (4R)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (aproximativ 1,322 g, 8,830 mmol) in N-metilpirolidinonă (10,00 mL) și 1,2-dietoxietan (2,000 mL) s-a adăugat carbonat de potasiu (aproximativ 2,654 g, 19,20 mmol). Suspensia a fost încălzită la 130 °C timp de 40 ore. Suspensia de reacție a fost răcită la temperatura ambiantă și adăugată încet la o soluție agitată rapid de HCl (aproximativ 8,958 mL de 6 M, 53,75 mmol) în apă cu gheață (100,0 mL) rezultând o suspensie albicioasă. Precipitatul a fost colectat și spălat de trei ori cu 10 mL de apă. Solidul a fost uscat în aer timp de o oră. Solidul brut a fost dizolvat in alcool izopropilic fierbinte (30,00 mL) și lăsat să stea două ore. Solidul a fost colectat, și solidul alburiu a fost spălat de trei ori cu 2 mL de alcool izopropilic rece. Solidul a fost uscat în aer timp de o oră și apoi uscat in vid la 45 °C timp de 18 ore pentru a da N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-2-[(4R)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (1,4 g, 61%). ESI-MS m/z calc. 597,2345, găsit 598,1 (M+1)+; Timp de retenție: 3,1 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,36 (s, 1H), 8,38 (s, 1H), 8,22 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,75 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,17 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 4,23 (s, 2H), 3,81 (s, 3H), 2,55 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 2,41 (t, J = 8,6 Hz, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,19 (dt, J = 12,0, 6,2 Hz, 1H), 1,87 (dd, J =

11,9, 5,6 Hz, 1H), 1,56 (s, 3H), 1,53 (s, 3H), 1,42 (t, J = 12,1 Hz, 1H), 1,23 (s, 6H), 0,81 (d, J = 6,2 Hz, 3H).

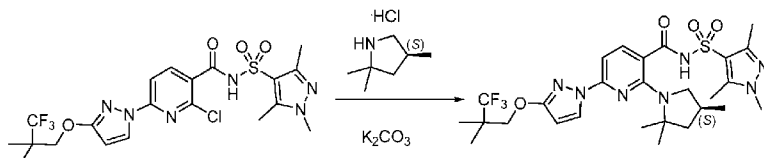
Sinteză de 6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-N-(1,3,5-trimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 17)

5 **Etapă 1:** 2-Cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-N-(1,3,5-trimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă



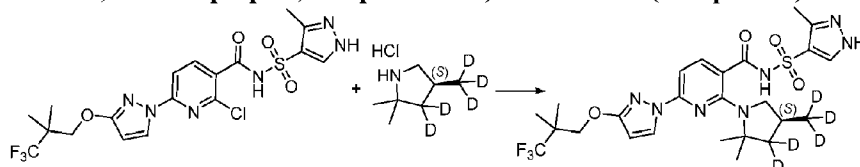
10 Acid 2-cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (100 mg, 0,2749 mmol) și CDI (53 mg, 0,3269 mmol) s-au combinat în THF (600,0 μ L) și s-au agitat la temperatura camerei timp de 2 ore într-un flacon (flacon 1). Intre timp, clorura de 1,3,5-trimetilpirazol-4-sulfonil (69 mg, 0,3307 mmol) a fost combinată cu amoniac (250 μ L de 7 M, 1,750 mmol) (în metanol) într-un flacon separat (flacon 2). După agitare timp de încă 20 min, volatilele au fost îndepărtate din flaconul 2 prin evaporare, și la reziduul solid s-a adăugat 1 mL de diclorometan, și a fost de asemenea evaporat. Apoi la flaconul 2 s-a adăugat DBU (60 μ L, 0,4012 mmol) și s-a agitat la 60 $^{\circ}$ C timp de 5 minute (pentru a facilita îndepărtarea amoniacului din clorura de amoniu reziduală). După răcire la temperatura camerei, s-a adăugat 1 mL THF și apoi s-a evaporat sub presiune redusă. Conținutul flaconului 1 a fost apoi adăugat la flaconul 2 prin seringă, și amestecul de reacție a fost agitat timp de 4 ore la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost diluat cu 10 mL acetat de etil, și spălat cu 10 mL acid citric 1M. Stratul apos a fost extras cu acetat de etil 2 x 10 mL, și organicele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și concentrate pentru a da un solid alb. Acest material a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară. 2-Cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-N-(1,3,5-trimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă (142 mg, 97%) ESI-MS m/z calc. 534,1064, găsit 535,1 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,7 minute.

Etapă 2: 6-[3-(3,3,3-Trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-N-(1,3,5-trimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă



30 2-Cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-N-(1,3,5-trimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă (142 mg, 0,2655 mmol), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (119 mg, 0,7951 mmol), și carbonat de potasiu (221 mg, 1,599 mmol) s-au combinat în DMSO (531,0 μ L) și s-au încălzit la 130 $^{\circ}$ C timp de 16 h. Masa de reacție a fost răcită la temperatura camerei, și s-a adăugat 1 mL de apă. După 15 minute de agitare, conținutul flaconului au fost lăsat să se decanteze, porțiunea lichidă a fost îndepărtată prin pipetă și solidele rămase au fost dizolvate cu 20 mL acetat de etil apoi spălate cu 15 mL acid citric 1M. Stratul apos și cel organic au fost separate, și stratul apos a fost extras încă de două ori cu 15 mL de acetat de etil. Organicele au fost combinate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Solidul rezultat a fost purificat suplimentar prin cromatografie pe silicagel eluand cu metanol 0-10% în diclorometan pentru a da un solid alb. 6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-N-(1,3,5-trimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (84 mg, 52%) ESI-MS m/z calc. 611,2502, găsit 612,2 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,16 minute.

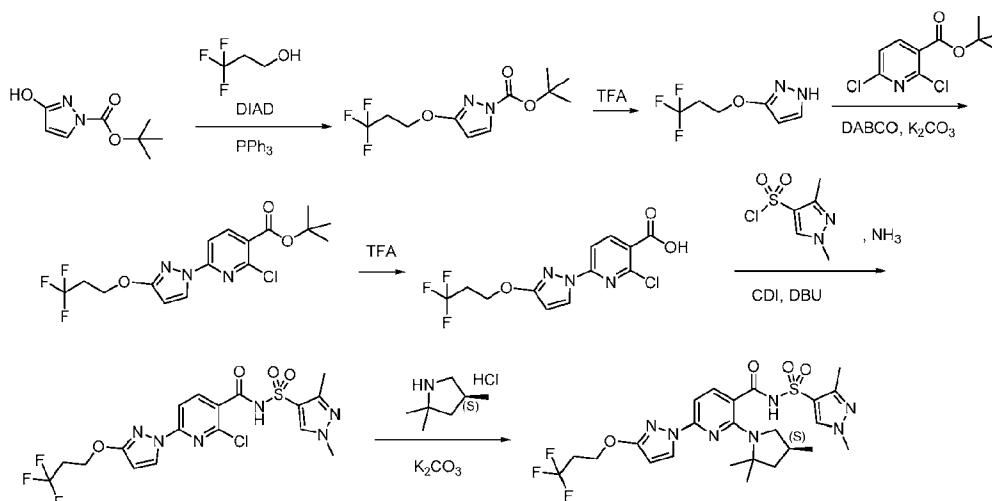
(S)-2-(2,2-Dimetil-4-(metil-d3)pirolidin-1-il-3,3-d2)-N-((3-metil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinamidă (Compusul 3)



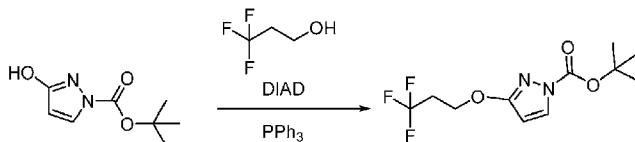
45 2-Cloro-N-[(3-metil-1H-pirazol-4-il)sulfonil]-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (5,34 g, 10,5 mmol), carbonat de potasiu (7,27 g, 52,6

mmol) și (4S)-3,3-dideuterio-2,2-dimetil-4-(trideuteriometil)pirolidină (Sare clorhidrat) (4,88 g, 31,6 mmol) s-au combinat în DMSO (45 mL) și s-au încălzit la 130 °C timp de 16 h. Masa de reacție a fost repartizată între acetat de etil (30 vol) și o soluție de acid citric 1M (pH 4-5). Organicele au fost separate, și spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și evaporate. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluand cu acetat de etil 0-40% în heptan urmat de triturare cu MTBE/diclorometan (2:1). Solidul obținut a fost transferat într-un balon cu fund rotund de 100 mL și uscat timp de 4 zile la temperatura camerei pentru a da (S)-2-(2,2-dimetil-4-(metil-d3)pirolidin-1-il-3,3-d2)-N-((3-metil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-6-(3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinamidă (2,6 g, 42%). ESI-MS m/z calc. 588,66, găsit 589,2 (M+1)⁺; Timp de retenție: 20,2 minute (3rulare 5 min).

Sinteză de N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoropropoxi)pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 11)



Etapa 1: 3-(3,3,3-Trifluoropropoxi)pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil



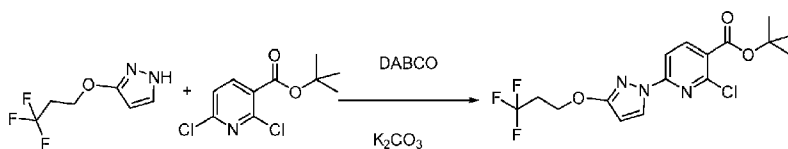
3-Hidroxi-pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (2,03 g, 11,02 mmol), 3,3,3-trifluoropropan-1-ol (aproximativ 1,320 g, 11,57 mmol), și trifenil fosfină (aproximativ 3,189 g, 2,817 mL, 12,16 mmol) s-au combinat în THF (20,40 mL) și masa de reacție a fost răcită într-o baie de gheață. La amestec s-a adăugat în picătură DIAD (aproximativ 2,507 g, 2,441 mL, 12,40 mmol) și masa de reacție a fost lăsată să se încălzească la temperatura camerei timp de 16 h. Amestecul a fost evaporat și materialul rezultat a fost partiționat între acetat de etil (50 mL) și hidroxid de sodiu 1N (50 mL). Organicele au fost separate, spălate cu saramură (30 mL), uscate pe sulfat de sodiu și evaporate. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluand cu acetat de etil 0-30% în hexani pentru a da 3-(3,3,3-trifluoropropoxi)pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (2,0 g, 65%) ESI-MS m/z calc. 280,1035, găsit 281,1 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,62 minute.

Etapa 2: 3-(3,3,3-Trifluoropropoxi)-1H-pirazol



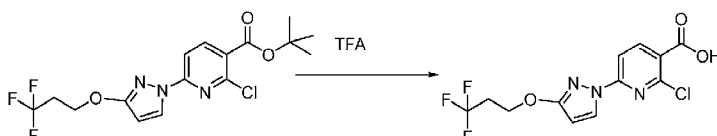
3-(3,3,3-Trifluoropropoxi)pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (2,0 g, 7,137 mmol) și TFA (aproximativ 8,138 g, 5,499 mL, 71,37 mmol) au fost dizolvate în diclorometan (20,00 mL) și agitate timp de 2 ore și apoi evaporate până la un solid. Solidul a fost partiționat între acetat de etil și o soluție saturată de bicarbonat de sodiu. Organicele au fost separate, spălate cu saramură, și uscate pe sulfat de sodiu. Organicele au fost uscate pentru a da 3-(3,3,3-trifluoropropoxi)-1H-pirazol (1,24 g, 96%) ESI-MS m/z calc. 180,05104, găsit 180,9 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,37 minute.

Etapa 3: 2-Cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoropropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *tert*-butil



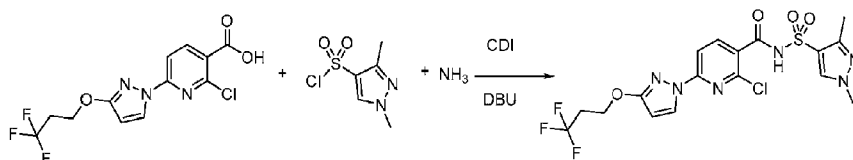
2,6-Dicloropiridin-3-carboxilat de *tert*-butil (aproximativ 1,433 g, 5,774 mmol), 3-(3,3,3-trifluoropropoxi)-1H-pirazol (1,04 g, 5,774 mmol), și carbonat de potasiu (aproximativ 957,6 mg, 6,929 mmol) (proaspăt marunțit) s-au combinat în DMSO anhidru (28,66 mL). S-a adăugat 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octan (aproximativ 129,6 mg, 1,155 mmol) și amestecul a fost agitat la temperatura camerei sub azot timp de 16 ore. Amestecul de reacție a fost diluat cu apă (20 mL) și agitat timp de 15 min. Solidul rezultat a fost colectat și spălat cu apă. Solidul a fost dizolvat în diclorometan și cantitatea mică de strat apos îndepărtată. Organicele au fost uscate pe sulfat de sodiu și evaporate pentru a da 2-cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoropropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *tert*-butil (1,81 g, 80%) ESI-MS *m/z* calc. 391,09106, găsit 392,2 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 0,84 minute.

Etapă 4: Acid 2-cloro-6-[3-[(1*R*,2*S*,4*S*)-norbornan-2-il]oxipirazol-1-il]piridin-3-carboxilic



2-Chloro-6-[3-(3,3,3-trifluoropropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *tert*-butil (1,81 g, 4,620 mmol) și TFA (3,6 mL, 47 mmol) s-au combinat în clorură de metilen (18 mL) și s-au încălzit la 40 °C timp de 3 ore. Masa de reacție a fost evaporată la sec și solidul rezultat a fost re-evaporat din hexani. Solidul a fost uscat mai departe pentru a da acid 2-cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoropropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (1,55 g, 100%) ESI-MS *m/z* calc. 335,02844, găsit 336,0 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 0,61 minute.

Etapă 5: 2-Chloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoropropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă

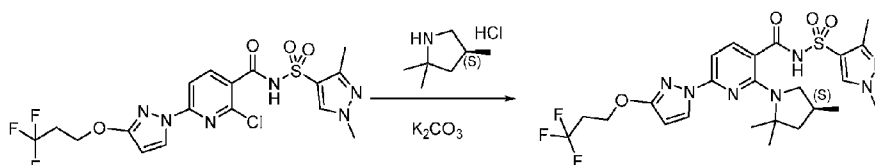


Etapă 1: formarea sulfonamidei
Clorura de 1,3-dimetilpirazol-4-sulfonil (aproximativ 97,42 mg, 0,5005 mmol) a fost dizolvată cu amoniac în metanol (aproximativ 298,0 μL 7 M, 2,086 mmol) și agitată la temperatura camerei timp de 30 min. Amestecul a fost evaporat la sec și re-evaporat din diclorometan. Solidele au fost dizolvate în THF (1 mL) și s-a adăugat DBU (aproximativ 211,6 mg, 207,9 μL, 1,390 mmol). Amestecul a fost agitat la 70 °C timp de 30 min pentru a îndepărta orice urme de amoniac rămas din reacție.

Etapă 2:

Acid 2-cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoropropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (140 mg, 0,4171 mmol) și carbonil diimidazol (aproximativ 85,36 mg, 0,5264 mmol) s-au combinat în THF (1,250 mL) și s-au agitat timp de 2 ore. La acest moment, amestecul s-a adăugat la amestecul de sulfonamidă din etapa 1. S-a adăugat DBU (aproximativ 211,6 mg, 207,9 μL, 1,390 mmol) și masa de reacție a fost agitată timp de încă 30 min la temperatura camerei. Masa de reacție a fost diluată cu acetat de etil și spălată cu o soluție de acid citric 1M, urmată de saramură. Organicele au fost separate, uscate pe sulfat de sodiu, și evaporate pentru a da 2-cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoropropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (196 mg, 95%) ESI-MS *m/z* calc. 492,05945, găsit 493,1 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 0,61 minute.

Etapă 6: N-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoropropoxi)pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă

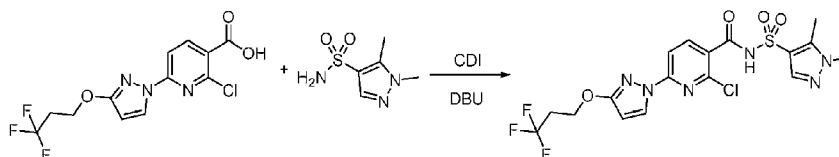


2-Cloro-N-metilsulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoropropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (aproximativ 100 mg, 0,2 mmol), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (Sare clorhidrat) (aproximativ 91 mg, 0,60 mmol), și carbonat de potasiu (aproximativ 141 mg, 1,0 mmol) s-au combinat în DMSO (500,0 μ L) și s-au încălzit la 130 °C timp de 16 h. Masa de reacție a fost diluată cu apă (3mL) și agitată timp de 20 min. S-a format un solid și lichidul apos a fost decantat. Solidul a fost dizolvat în acetat de etil și spălat cu o soluție de acid citric 1M, apoi cu saramură. Organicele au fost uscate pe sulfat de sodiu și evaporate. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluând cu metanol 0-10% în diclorometan pentru a da N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoropropoxi)pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (29 mg, 25%) ESI-MS m/z calc. 569,20, găsit 570,3 (M+1)⁺; Timp de retenție: 1,89 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,36 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 8,22 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,74 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,92 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,15 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,44 (t, J = 5,9 Hz, 2H), 3,81 (s, 3H), 2,83 (qt, J = 11,5, 5,9 Hz, 2H), 2,59 - 2,53 (m, 1H), 2,46 - 2,37 (m, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,26 - 2,10 (m, 1H), 1,88 (dd, J = 11,9, 5,5 Hz, 1H), 1,55 (d, J = 11,1 Hz, 6H), 1,42 (t, J = 12,2 Hz, 1H), 0,81 (d, J = 6,3 Hz, 3H).

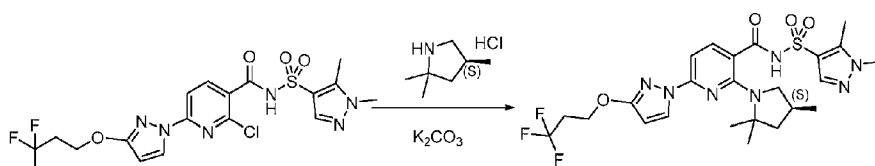
Sinteză de N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoropropoxi)pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 12)

Etapă 1: 2-Cloro-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoropropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă



Acid 2-cloro-6-[3-(3,3,3-trifluoropropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (151 mg, 0,4499 mmol) și carbonil diimidazol (aproximativ 92,07 mg, 0,5678 mmol) s-au combinat în THF (1,348 mL) și s-au agitat timp de 2 ore. La acest moment, s-a adăugat 1,5-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (aproximativ 78,83 mg, 0,4499 mmol) urmată de DBU (aproximativ 228,4 mg, 224,4 μ L, 1,500 mmol) și masa de reacție a fost agitată timp de încă 30 min la temperatura camerei. Masa de reacție a fost diluată cu acetat de etil și spălată cu o soluție de acid citric 1M, urmată de saramură. Organicele au fost separate, uscate pe sulfat de sodiu, și evaporate pentru a da 2-cloro-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoropropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (216 mg, 97%) ESI-MS m/z calc. 492,05945, găsit 493,1 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,61 minute.

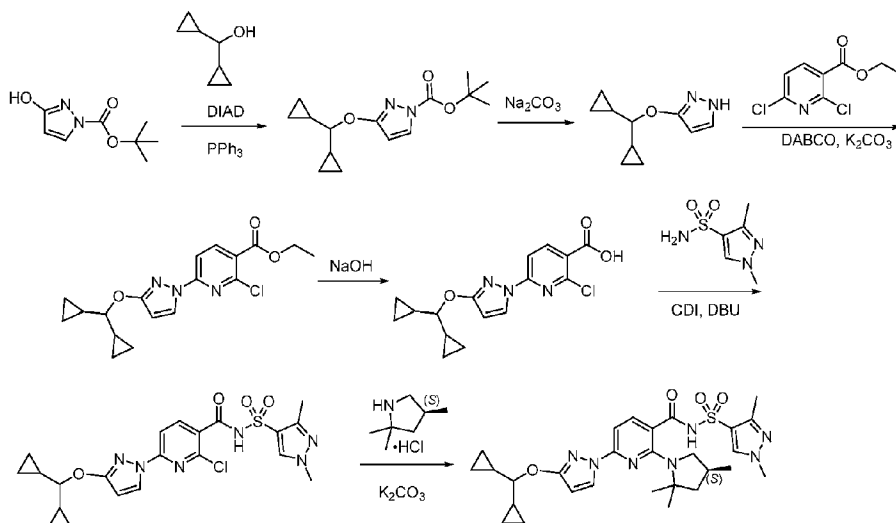
Etapă 2: N-(1,5-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoropropoxi)pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă



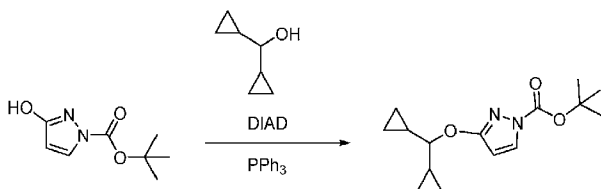
2-Cloro-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoropropoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (aproximativ 100 mg, 0,2 mmol), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (aproximativ 91 mg, 0,60 mmol), și carbonat de potasiu (aproximativ 141 mg, 1,0 mmol) s-au combinat în DMSO (500,0 μ L) și s-au încălzit la 130 °C timp de 16 h. Masa de reacție a fost diluată cu apă (3mL) și agitată timp de 20 min. S-a format un solid și lichidul apos a fost decantat. Solidul a fost dizolvat în acetat de etil și spălat cu o soluție de acid citric 1M, apoi cu saramură. Organicele au fost uscate pe sulfat de sodiu și metanolul evaporat. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluând cu 0-10% în diclorometan pentru a da N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoropropoxi)pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (51 mg, 44%) ESI-MS m/z calc. 569,20, găsit 570,3 (M+1)⁺; Timp de retenție: 1,89 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,36 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 8,22 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,74 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,92 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,15 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,44 (t, J = 5,9 Hz, 2H), 3,81 (s, 3H), 2,83 (qt, J = 11,5, 5,9 Hz, 2H), 2,59 - 2,53 (m, 1H), 2,46 - 2,37 (m, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,26 - 2,10 (m, 1H), 1,88 (dd, J = 11,9, 5,5 Hz, 1H), 1,55 (d, J = 11,1 Hz, 6H), 1,42 (t, J = 12,2 Hz, 1H), 0,81 (d, J = 6,3 Hz, 3H).

Sinteză de 6-[3-(Diciclopropilmetoxi)pirazol-1-il]-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 48)



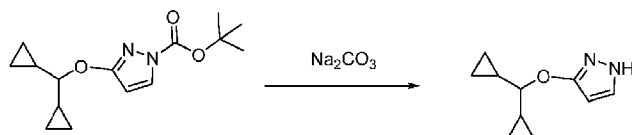
Etapă 1: 3-(Diciclopropilmetoxi)pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil



Diciclopropilmetanol (aproximativ 468,9 mg, 4,180 mmol), 3-hidroxipirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (700 mg, 3,800 mmol), și PPh₃ (aproximativ 1,296 g, 4,940 mmol) s-au dizolvat în THF (19,00 mL), și s-au răcit la 0 °C într-o baie de gheață. S-a adăugat în picătură prin seringă DIAD (aproximativ 998,9 mg, 956,8 μL, 4,940 mmol) și amestecul de reacție a fost lăsat să se încălzească încet la temperatura camerei în curs de o oră, și apoi agitat 16 ore la temperatura camerei, și 2 ore la 60 °C. Solventul a fost îndepărtat sub presiune redusă. Uleiul rămas a fost apoi dizolvat în 60 mL acetat de etil, și spălat cu 50 mL NaOH 1N. Stratul apos a fost extras suplimentar cu acetat de etil (2x40mL), și organicele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Materialul brut a fost apoi purificat prin cromatografie pe silicagel, utilizând un gradient 0-40% de acetat de etil în hexani. Frațiunile conținând produsul dorit au fost combinate și concentrate pentru a da 3-(diciclopropilmetoxi)pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (483 mg, 46%). ESI-MS m/z calc. 278,16306, găsit 279,3 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,11 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMF) δ 8,02 (dd, J = 3,1, 0,9 Hz, 1H), 6,07 (dd, J = 3,1, 0,9 Hz, 1H), 3,80 (td, J = 7,8, 1,0 Hz, 1H), 1,53 (d, J = 1,0 Hz, 9H), 1,23 - 1,04 (m, 2H), 0,59 - 0,27 (m, 8H).

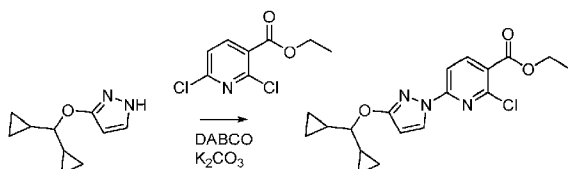
Etapă 2: 3-(Diciclopropilmetoxi)-1H-pirazol



La 3-(diciclopropilmetoxi)pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (470 mg, 1,689 mmol) în 1,2-dimetoxietan (5,875 mL) s-a adăugat carbonat de sodiu (537 mg, 5,067 mmol) în apă (2,5 mL), și amestecul de reacție a fost încălzit la 90 °C timp de încă 16 ore într-un flacon cu capac. Amestecul de reacție a fost răcit la temperatura camerei și diluat cu apă (50 mL) și acetat de etil (50 mL). Organicele au fost separate, și stratul apos a fost extras cu acetat de etil 2x 25 mL. Organicele

combinat au fost spălate cu saramură, și uscate pe sulfat de sodiu, apoi concentrate pentru a da un ulei incolor, care a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară. 3-(Diciclopropilmetoxi)-1H-pirazol (230 mg, 76%) ESI-MS m/z calc. 178,11061, găsit 179,1 (M+1)⁺; Timp de retenție: 1,32 minute.

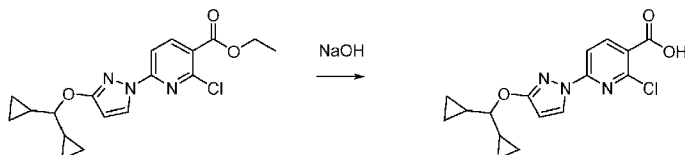
5 **Etapa 3: 2-Cloro-6-[3-(diciclopropilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de etil**



Un balon cu fund rotund a fost încărcat sub azot cu 3-(diciclopropilmetoxi)-1H-pirazol (226 mg, 1,268 mmol), 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de etil (280 mg, 1,272 mmol), K₂CO₃ (264 mg, 1,910 mmol) (proaspăt mărunțit într-un mojar) și DMF anhidră (2,100 mL). S-a adăugat DABCO (26 mg, 0,2318 mmol) și amestecul a fost agitat la temperatura camerei sub azot timp de 16 ore. Amestecul de reacție a fost diluat cu acetat de etil (50 mL) și apă (50 mL) și cele două faze au fost separate. Faza apoasă a fost extrasă suplimentar cu acetat de etil (2 x 30 mL), și extractele combinate au fost spălate cu saramură și uscate pe sulfat de sodiu, după care solvenții au fost îndepărtați sub presiune redusă pentru a furniza un solid alb; 2-cloro-6-[3-(diciclopropilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de etil (210 mg, 46%). ESI-MS m/z calc. 361,11932, găsit 362,3 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,82 minute.

20 ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 8,48 - 8,31 (m, 2H), 7,69 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,19 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 4,34 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,88 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 1,33 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 1,27 - 1,14 (m, 2H), 0,60 - 0,35 (m, 8H).

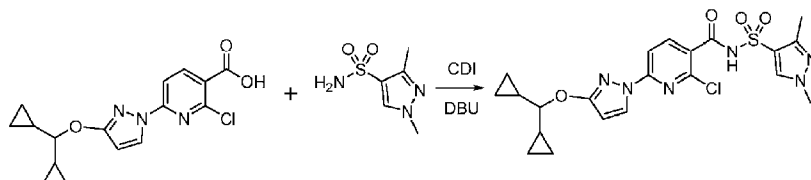
Etapa 4: Acid 2-cloro-6-[3-(diciclopropilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic



25 La o soluție de 2-cloro-6-[3-(diciclopropilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de etil (5 g, 13,82 mmol) în THF (35,00 mL) și MeOH (15,00 mL) s-a adăugat NaOH (aproximativ 13,82 mL de 2 M, 27,64 mmol). Amestecul a fost agitat la temperatura ambiantă timp de 45 min. Amestecul a fost acidulat cu adăugare lentă de HCl (aproximativ 27,64 mL de 1 M, 27,64 mmol) și amestecul a fost extras cu EtOAc (125 mL). Faza apoasă a fost separată și faza organică a fost spălată cu 75 mL de saramură, uscată pe MgSO₄, filtrată și concentrată în vid. Produsul a fost un solid alburiu utilizat fără purificare suplimentară. Acid 2-cloro-6-[3-(diciclopropilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (4,5 g, 98%). ESI-MS m/z calc. 333,088, găsit 334,0 (M+1)⁺; Timp de retenție: 1,81 minute.

35 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,60 (s, 1H), 8,41 - 8,34 (m, 2H), 7,67 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,18 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 3,88 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 1,29 - 1,12 (m, 2H), 0,59 - 0,38 (m, 8H).

Etapa 5: 2-Cloro-6-[3-(diciclopropilmetoxi)pirazol-1-il]-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonilpiridin-3-carboxamidă

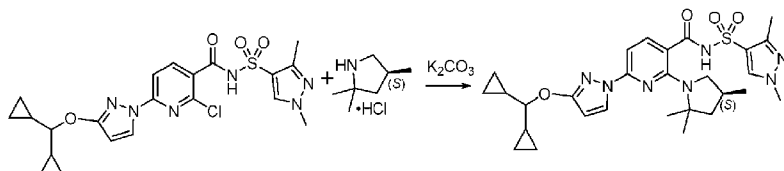


40 La acid 2-cloro-6-[3-(diciclopropilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (4,5 g, 13,48 mmol) în THF (45 mL) s-a adăugat încet CDI (2,4 g, 15 mmol). Amestecul a fost agitat la temperatura ambiantă timp de o oră. La esterul activat s-a adăugat în porții 1,3-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (2,6 g, 14,84 mmol) urmată de DBU (2,4 mL, 16 mmol), și amestecul a fost agitat la temperatura ambiantă timp de o oră. La amestecul de reacție s-a adăugat încet acid citric (10,4 g, 54,1 mmol) în apă (90 mL). Amestecul a fost extras cu EtOAc (120 mL), și faza organică a fost spălată cu saramură, uscată pe sulfat de magneziu, filtrată, și concentrată în vid. Produsul brut a

fost cromatografiat pe o coloană cu silicagel ISCO 120g eluând cu EtOAc/hexani 0-100% rezultând 2-cloro-6-[3-(d ciclopropilmetoxi)pirazol-1-il]-*N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă (5,3 g, 80%). ESI-MS *m/z* calc. 490,119, găsit 491,1 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 2,57 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,71 (s, 1H), 8,52 - 8,25 (m, 2H), 8,07 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,63 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,16 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 3,87 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 3,84 (s, 3H), 2,35 (s, 3H), 1,26 - 1,14 (m, 2H), 0,55 - 0,40 (m, 8H).

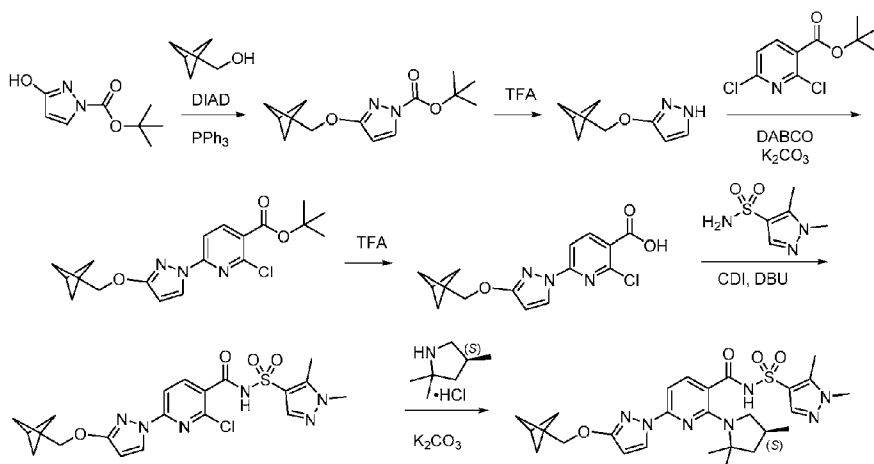
Etapă 6: 6-[3-(Diciclopropilmetoxi)pirazol-1-il]-*N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă



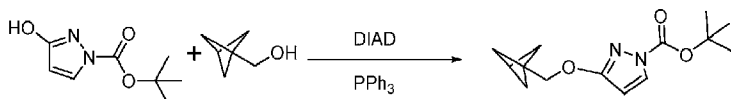
La o soluție de 2-cloro-6-[3-(diciclopropilmetoxi)pirazol-1-il]-*N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă (5,2 g, 10,59 mmol) și (4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (3,65 g, 24,39 mmol) în NMP (25 mL) și 1,2-dietoxietan (5 mL) s-a adăugat carbonat de potasiu (7,32 g, 53,0 mmol). Suspensia a fost încălzită la 130 °C timp de 20 ore. Suspensia reacției a fost răcită la temperatura ambiantă și adăugată încet la o soluție agitată rapid, de HCl (18 mL de 6 M, 108 mmol) în apă cu gheață (150 mL) rezultând o suspensie albicioasă. Precipitatul a fost colectat și spălat de trei ori cu 10 mL de apă. Solidul a fost uscat în aer timp de o oră. Solidul a fost dizolvat în 150 mL de EtOAc și spălat cu 100 mL de HCl 1 M și 100 mL de saramură. Faza organică a fost uscată pe sulfat de magneziu, filtrată, și concentrată în vid rezultând un solid alburiu. Solidul a fost dizolvat în 20 mL de acetonitril și cromatografiat pe o coloană cu fază inversă ISCO 415g eluând cu acetonitril/apă 5-100%. Frațiunile de produs au fost colectate și concentrate in vid. Produsul a fost re-cromatografiat pe o coloană cu silicagel ISCO 80g eluând cu EtOAc/hexani 0-100%. Frațiunile pure au fost colectate și concentrate în vid rezultând un solid alburiu. Solidul a fost uscat sub vid la 45°C timp de patru ore pentru a da 6-[3-(diciclopropilmetoxi)pirazol-1-il]-*N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (4,1 g, 68%). ESI-MS *m/z* calc. 567,26276, găsit 567,0 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 3,06 minute.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,34 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 8,16 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 7,72 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,84 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,08 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 3,84 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 3,80 (s, 3H), 2,55 (d, *J* = 10,5 Hz, 1H), 2,41 (t, *J* = 8,6 Hz, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,18 (dq, *J* = 11,5, 6,1 Hz, 1H), 1,87 (dd, *J* = 11,9, 5,6 Hz, 1H), 1,54 (d, *J* = 10,8 Hz, 6H), 1,41 (t, *J* = 12,1 Hz, 1H), 1,18 (dtd, *J* = 12,9, 8,0, 5,1 Hz, 2H), 0,81 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H), 0,56 - 0,38 (m, 8H).

Sinteză de 6-[3-(3-biciclo[1,1,1]pentanilmetoxi)pirazol-1-il]-*N*-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 23)

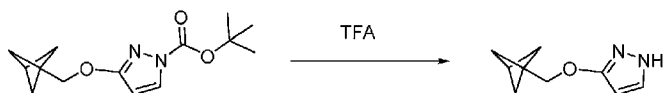


Etapă 1: 3-(3-biciclo[1,1,1]pentanilmetoxi)pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil



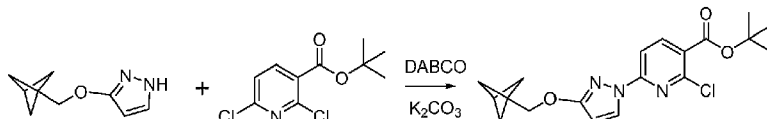
O soluție de 3-biciclo[1,1,1]pentanilmetanol (0,23 g, 2,3 mmol), 3-hidroxi-pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (0,42 g, 2,3 mmol), și trifenil fosfină (0,66 g, 2,5 mmol) în THF (12 mL) a fost răcită într-o baie de gheață, și s-a adăugat încet N-izopropoxycarboniliminocarbamat de izopropil (0,49 mL, 2,5 mmol). Masa de reacție a fost lăsată să se încălzească încet la temperatura camerei și a fost agitată timp de trei zile. Aceasta a fost diluată cu acetat de etil, spălată cu bicarbonat de sodiu apos saturat, uscată pe sulfat de sodiu, și evaporată sub vid. Reziduul a fost purificat prin cromatografie pe silicagel cu acetat de etil 0-40% în hexani pentru a da 3-(3-biciclo[1,1,1]pentanilmetoxi)pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil ca ulei incolor (0,40 g, 66%) ESI-MS *m/z* calc. 264,15, găsit 265,2 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,79 minute.

Etapă 2: 3-({Biciclo[1,1,1]pentan-1-il}metoxi)-1*H*-pirazol



O soluție de 3-(3-biciclo[1,1,1]pentanilmetoxi)pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (0,40 g, 1,513 mmol) și acid trifluoroacetic (583 μ L, 7,57 mmol) în diclorometan (3 mL) a fost agitată timp de patru ore. Volatilele au fost îndepărtate sub vid, și reziduul a fost alcalinizat cu bicarbonat de sodiu apos saturat și extras cu acetat de etil. Extractele combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu și evaporate pentru a da 3-({biciclo[1,1,1]pentan-1-il}metoxi)-1*H*-pirazol ca ulei incolor (0,23 g, 93%) ESI-MS *m/z* calc. 164,09, găsit 165,1 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,45 minute.

Etapă 3: 6-[3-(3-Biciclo[1,1,1]pentanilmetoxi)pirazol-1-il]-2-cloro-piridin-3-carboxilat de *terț*-butil



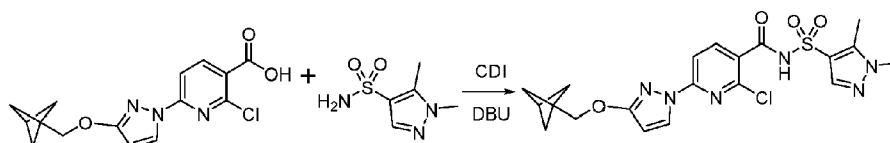
Un amestec de 3-(3-biciclo[1,1,1]pentanilmetoxi)-1*H*-pirazol (0,23 g, 1,4 mmol), 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de *terț*-butil (0,35 g, 1,4 mmol), carbonat de potasiu (0,23 g, 1,7 mmol), și 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octan (32 mg, 0,29 mmol) în DMSO (7 mL) a fost agitat la temperatura camerei timp de 16 ore. Masa de reacție a fost diluată cu apă și extrasă cu acetat de etil. Extractele combinate au fost spălate cu sare și apă, uscate pe sulfat de sodiu, și evaporate. Reziduul a fost purificat prin cromatografie pe silicagel cu metanol 0-5% în diclorometan pentru a da 6-[3-(3-biciclo[1,1,1]pentanilmetoxi)pirazol-1-il]-2-cloro-piridin-3-carboxilat de *terț*-butil (0,45 g, 85%) ESI-MS *m/z* calc. 375,13, găsit 376,2 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,93 minute.

Etapă 4: Acid 6-[3-(3-biciclo[1,1,1]pentanilmetoxi)pirazol-1-il]-2-cloro-piridin-3-carboxilic



O soluție de 6-[3-(3-biciclo[1,1,1]pentanilmetoxi)pirazol-1-il]-2-cloropiridin-3-carboxilat de *terț*-butil (0,45 g, 1,2 mmol) și acid trifluoroacetic (0,95 mL, 12 mmol) în diclorometan (6 mL) a fost agitată timp de patru ore. Solventul a fost evaporat, și reziduul a fost preluat în acetonitril. Solventul a fost evaporat pentru a da acid 6-[3-(3-biciclo[1,1,1]pentanilmetoxi)pirazol-1-il]-2-cloro-piridin-3-carboxilic ca solid incolor (0,38 g, 100%) ESI-MS *m/z* calc. 319,07, găsit 320,1 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,69 minute ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,50 - 8,34 (m, 2H), 7,72 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,21 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 4,19 (s, 2H), 2,54 (s, 1H), 1,81 (s, 6H).

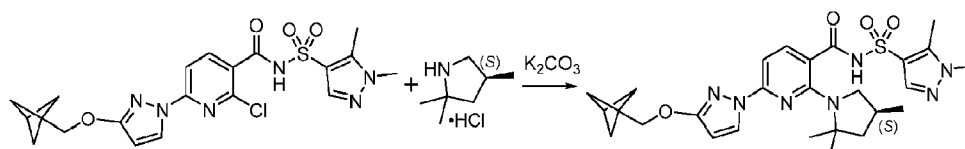
Etapă 5: 6-[3-(3-Biciclo[1,1,1]pentanilmetoxi)pirazol-1-il]-2-cloro-*N*-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă



O soluție de acid 6-[3-(3-biciclo[1,1,1]pentanilmetoxi)pirazol-1-il]-2-cloro-piridin-3-carboxilic (0,12 g, 0,3753 mmol) și carbonil diimidazol (aproximativ 73 mg, 0,45 mmol) în THF (1,9 mL) a fost agitată timp de 30 minute, și s-au adăugat 1,5-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (aproximativ 85 mg, 0,49 mmol) și diazabicyclo[5,4,0]undec-7-enă (aproximativ 68 mg, 67 μ L,

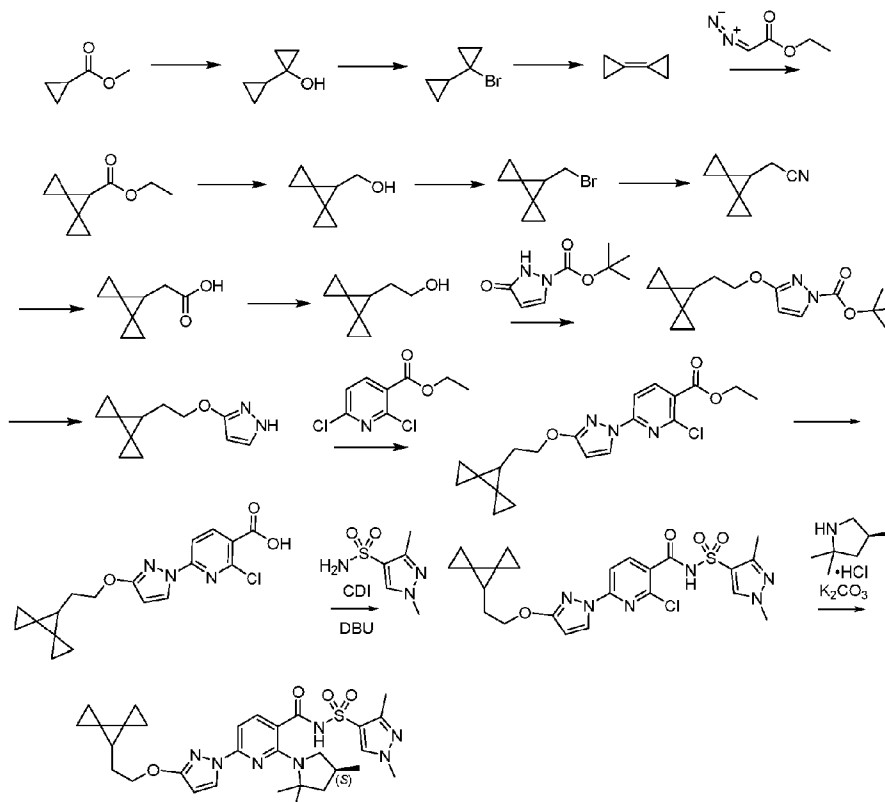
0,45 mmol). După 16 ore masa de reacție a fost diluată cu acid citric apos 1 M și extrasă cu acetat de etil. Extractele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și evaporate pentru a da 6-[3-(3-biciclo[1,1,1]pentanilmetoxi)pirazol-1-il]-2-cloro-*N*-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă brută care a fost utilizată în etapa următoare ca atare (0,19 g, 106%) ESI-MS *m/z* calc. 476,10, găsit 477,2 (M+1)+; Timp de retenție: 0,68 minute.

Etapă 6: 6-[3-(3-Biciclo[1,1,1]pentanilmetoxi)pirazol-1-il]-*N*-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă

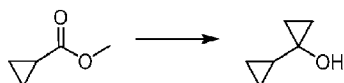


Un amestec de 6-[3-(3-biciclo[1,1,1]pentanilmetoxi)pirazol-1-il]-2-cloro-*N*-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă (aproximativ 0,18 g, 0,38 mmol), (4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (aproximativ 160 mg, 1,1 mmol), și carbonat de potasiu (aproximativ 320 mg, 2,3 mmol) în DMSO (1,9 mL) a fost agitată la 130 °C timp de 16 ore. Masa de reacție a fost filtrată și purificată prin HPLC cu fază inversă-MS (30%-99% acetonitril/apă (HCl 5 mM)) pentru a da 6-[3-(3-biciclo[1,1,1]pentanilmetoxi)pirazol-1-il]-*N*-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (90 mg, 42%) ESI-MS *m/z* calc. 553,25, găsit 554,5 (M+1)+; Timp de retenție: 2,11 minute. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,19 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,72 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,89 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,12 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 4,15 (s, 2H), 3,78 (s, 3H), 2,62 - 2,52 (m, 5H), 2,40 (t, *J* = 8,6 Hz, 1H), 2,27 - 2,11 (m, 1H), 1,87 (dd, *J* = 11,9, 5,6 Hz, 1H), 1,80 (s, 6H), 1,55 (d, *J* = 15,0 Hz, 6H), 1,43 (t, *J* = 12,1 Hz, 1H), 0,80 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H)

Sinteză de *N*-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 56)



Etapă 1: 1-Ciclopropilciclopropanol

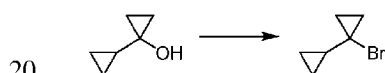


La o soluție de ciclopropanecarboxilat de metil (75 g, 749,1 mmol) în eter (450 mL) s-a adăugat izopropoxid de titan(IV) (55,3 mL, 187,4 mmol). La amestec s-a adăugat încet bromură de

etil magneziu (1,6 L de 1 M, 1,60 mol) în 2 ore. Adăugarea este exotermă și controlată prin monitorizarea vitezei de adăugare și utilizând o baie de răcire. Temperatura reacției a fost menținută între 21-26°C în timpul adăugării. Amestecul a fost agitat suplimentar 2 ore la temperatura ambiantă. După 2 ore, amestecul a fost răcit la -5 °C utilizând o baie cu acetonă/gheață uscată și stins încet cu acid sulfuric (970 g de 10 %g/g, 990 mmol). Amestecul de reacție a fost răcit într-o baie cu gheață uscată/acetonă pentru a menține vasul de reacție sub 0 °C în timpul stingerii. Pe măsură ce stingerea progresează, se formează un solid gri/violet. După terminarea adăugării acidului sulfuric apos, solidul nu a mai trecut de loc în soluție. Amestecul a fost agitat la 0 °C timp de 1 oră. Precipitatul a fost filtrat prin Celite utilizând o frită medie și precipitatul a fost spălat cu dietil eter (900 mL). Filtratul a fost transferat într-o palnie de separare și faza organică a fost spălată cu saramură (1 L), bicarbonat de sodiu saturat (1L), și saramură (1L). Faza organică a fost uscată pe sulfat de magneziu, filtrată pe Celite, și solventul a fost evaporat in vid la 100 torr și baia de apă a fost setată la 20 °C. Produsul brut a fost depozitat la -23 °C peste noapte și utilizat fără purificare suplimentară. 1-Ciclopropilciclopropanolul (61 g, 83%) a conținut ~50% solvent (THF și iPrOH) și s-a utilizat ca atare în etapa următoare.

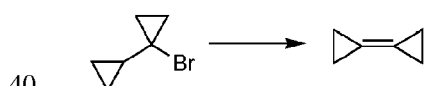
¹H RMN (400 MHz, Cloroform-d) δ 1,32 (tt, J = 8,2, 5,1 Hz, 1H), 0,71 - 0,61 (m, 2H), 0,51 - 0,43 (m, 2H), 0,43 - 0,33 (m, 2H), 0,23 - 0,14 (m, 2H).

Etapa 2: 1-Bromo-1-ciclopropil-ciclopropan



O soluție de trifenilfosfină (56,1 g, 213,9 mmol) în DCM (200 mL) a fost răcită la -10 °C. S-a adăugat o soluție de brom (11,0 mL, 214 mmol) în DCM (40 mL) și masa de reacție a fost agitată la -10°C timp de încă 15 minute. Masa de reacție a fost apoi răcită la -30°C și s-a adăugat piridină (3,3 mL, 41 mmol). O soluție de 1-ciclopropilciclopropanol (20,0 g, 204 mmol), piridină (17,3 mL, 214 mmol), și DCM (100 mL) s-a adăugat în picătură în timp ce temperatura s-a menținut între -15°C și -20°C. După 30 minute, adăugarea a fost completă și masa de reacție a fost lăsată să se încălzească treptat la rt. Analiza ¹H RMN a arătat puțin produs. Masa de reacție a fost lăsată să se agite la 40°C peste noapte. Analiza GCMS a arătat 89% produs. Masa de reacție a fost răcită la rt și apoi stinsă cu apă (100 mL). Masa de reacție a fost agitată timp de 10 minute și apoi fazele au fost separate. Faza organică a fost spălată succesiv cu HCl 1 M (102 mL), bicarbonat de sodiu sat. (50 mL), uscată pe sulfat de sodiu, și concentrată (30 °C/vid de casă ~300 torr) pentru a îndepărta cea mai mare parte din DCM. Amestecul de reacție brut a fost distilat rapid (40°C/20 torr) pentru a furniza produsul (aproximativ 50 g). Reziduul solid (Ph₃PO și produs) a fost re-încălzit și distilat (50 - 60 °C/20 torr) pentru a da 60,4 g. După combinarea tuturot celor de mai sus și clătire cu DCM, concentrarea a dat 21,5 g (randament 65%) de lichid incolor, tulbure. ¹H RMN (400 MHz, Cloroform-d) δ 5,30 (s, 1H), 1,61 (tt, J = 8,2, 5,0 Hz, 1H), 1,07 - 1,02 (m, 2H), 0,78 - 0,66 (m, 2H), 0,67 - 0,51 (m, 2H), 0,35 - 0,21 (m, 2H).

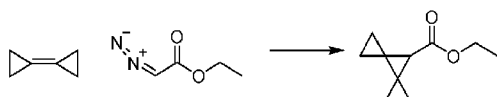
Etapa 3: Ciclopropilidenciclopropan



O soluție de *terf*-butoxid de potasiu (16,7 g, 148,8 mmol) în DMSO (100 mL) a fost agitată la RT într-un balon cu fund rotund cu 3 gaturi, de 250-mL. S-a adăugat în picătură 1-bromo-1-ciclopropil-ciclopropan (20,0 g, 124,2 mmol) și masa de reacție a devenit imediat de culoare închisă și apoi maro. Masa de reacție a fost ușor exotermă (temperatura menținută între 18°C și 22°C utilizând o baie de apă-gheață). După 10 minute, adăugarea a fost completă. Baia de apă-gheață a fost îndepărtată și masa de reacție a fost lăsată să se agite la RT. După 90 minute, analiza ¹H RMN a arătat că reacția a fost aproape completă. Amestecul de reacție a fost distilat in vid utilizând o distilare balon-la-balon. Distilarea a avut loc la 60°C până la 80°C între 40 și 100 torr. Distilatul s-a colectat încet în recipient pentru a da 18,2 g (~95% pentru olefină/t-BuOH combinate) de lichid incolor care a fost analizat prin ¹H RMN ca având (7,28 grame de olefină) împreună cu t-BuOH.

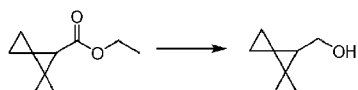
Distilatul a fost spălat în plus cu apă (5x 10 mL). S-a adăugat DCM (10 mL) și fazele reacției au fost separate la fiecare spălare. Straturile organice au fost uscate pe sulfat de magneziu, filtrate, și evaporate pentru a da 17,30 g (conținând 7,30 g produs; 73%) ca incolor lichid (soluție). ¹H RMN (400 MHz, Cloroform-d) δ 1,19 (s, 8H). ¹H RMN confirmă prezența DCM și a unei cantități mici de *terf*-butanol.

Etapa 4: Dispiro[2,0,2,1]heptan-7-carboxilat de etil



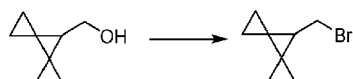
- La o soluție de ciclopropilidenciclopropan (49,5 g, 617,8 mmol) în DCM (110 mL) la 0°C sub o atmosferă de azot s-a adăugat acetat de rodiu(II) (4,2 g, 9,503 mmol). La amestecul la 0°C s-a adăugat 2-diazoacetat de etil (106,8 mL, 1,016 mol) utilizând o pompă cu seringă setată la o viteză de adăugare de 0,02 mL/min (1,2 mL/ore). Adăugarea a fost continuă timp de 89 ore. Amestecul de reacție brut a fost filtrat printr-un strat de silice, spălând 3X cu 150 mL de DCM. Materialele volatile au fost îndepărtate în vid rezultând un ulei de culoare galben închis, conținând 20% DCM, (E)-but-2-endoat de dietil și (Z)-but-2-endoat de dietil ca produse secundare. Dispiro[2,0,2,1]heptan-7-carboxilat de etil (100 g, 97%), ¹H RMN (400 MHz, cloroform-d) δ 4,13 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 2,23 (s, 1H), 1,24 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 1,08 - 0,93 (m, 4H), 0,90 - 0,82 (m, 2H), 0,77 (ddd, J = 8,2, 5,0, 3,5 Hz, 2H).

Etapă 5: Dispiro[2,0,2,1]heptan-7-il}metanol



- La o suspensie de LiAlH₄ (7,8 g, 200,2 mmol) în dietil eter (300 mL) răcită cu o baie de gheață s-a adăugat încet dispiro[2,0,2,1]heptan-7-carboxilat de etil (10,77 g, 64,79 mmol). Amestecul a fost lăsat să se încălzească la reflux ușor în timpul adăugării și a continuat să se agite la temperatura ambiantă timp de 1 oră. Conform ¹H RMN, reacția a fost completă. Masa de reacție a fost răcită cu o baie de gheață și stinsă încet cu adăugare de apă (8,0 mL, 440 mmol), urmată de hidroxid de sodiu (8,0 mL de 2 M, 16 mmol) și apoi apă (24,0 mL, 1,33 mol). Suspensia galben deschis a fost filtrată prin Celite și spălată 3X cu 150 mL de MTBE. Filtratul a fost concentrat în vid rezultând 8,87 g de ulei limpede. {dispiro[2,0,2,1]heptan-7-il}metanol (8,87 g, 110%). ¹H RMN (400 MHz, Cloroform-d) δ 3,71 (dd, J = 6,7, 5,5 Hz, 2H), 1,76 - 1,65 (m, 1H), 1,46 (t, J = 5,6 Hz, 1H), 0,87 (q, J = 1,9 Hz, 4H), 0,72 - 0,61 (m, 2H), 0,60 - 0,50 (m, 2H).

Etapă 6: 7-(Bromometil)dispiro[2,0,2,1]heptan



- Un balon cu fund rotund cu 3 gaturi de 1000 mL a fost echipat cu un agitator mecanic, o baie de răcire, o pâlnie de alimentare, o sondă de temperatură J-Kem și o admisie/evacuare de azot. Vasul a fost încărcat sub o atmosferă de azot cu trifenilfosfină (102,7 mL, 443,2 mmol) și diclorometan (1 L) care a furnizat o soluție incoloră limpede. Agitarea a fost pornită și baia de răcire a fost încărcată cu acetonă. S-a adăugat în porții gheață uscată până când a fost obținută o temperatură a vasului de -15 °C. Pâlnia de alimentare a fost încărcată cu o soluție de brom (22,82 mL, 443,0 mmol) în diclorometan (220 mL, 10 mL/g) care a fost ulterior adăugată în picătură într-o oră. În timpul adăugării s-a adăugat în porții gheață uscată pentru a menține temperatura vasului la -15 °C. După ce adăugarea a fost completă, suspensia galben pal a continuat să se agite la -15 °C timp de 15 minute, moment la care suspensia a fost răcită la -30 °C. Pâlnia de alimentare a fost încărcată cu o soluție de dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilmetanol (50 g, 402,6 mmol), piridină (35,82 mL, 442,9 mmol) și diclorometan (250 mL, 5 mL/g). Soluția limpede galben pal a fost apoi adăugată în picătură în timp de 1,5 ore menținând temperatura vasului la -30 °C. Amestecul de reacție limpede galben deschis rezultat a fost lăsat să se încălzească treptat la o temperatură a vasului de -5°C și apoi a continuat să se agite la -5°C timp de 1 oră. O alicotă a fost îndepărtată, diluată cu hexan ceea ce a condus la formarea unui precipitat. Suspensia a fost filtrată printr-un strat de Celite. Filtratul limpede a fost concentrat sub presiune redusă (temperatura băii de apă la 20°C) pentru a furniza un ulei limpede galben. Analiza prin ¹H RMN a indicat că nu a rămas materie primă. Terminarea reacției a fost determinată prin dispariția materiei prime, dublet la 3,71 ppm și apariția produsului, dublet la 3,49 ppm. Amestecul de reacție a fost turnat în hexan (2000 mL) ceea ce a condus la formarea unui precipitat. Suspensia a fost agitată la temperatura camerei timp de 30 minute și apoi filtrată printr-o pâlnie Buchner cu frită de sticlă cu un strat de Celite de 20 mm. Filtratul limpede a fost concentrat sub presiune redusă (temperatura în baia de apă la 20°C) pentru a furniza un ulei galben cu puțin precipitat prezent. Uleiul a fost diluat cu hexan, lăsat să stea la temperatura camerei timp de 15 minute și apoi filtrat printr-o pâlnie Buchner cu frită de sticlă cu strat de celite de 20 mm. Filtratul limpede a fost concentrat sub presiune redusă (temperatura băii de apă la 20°C) pentru a furniza 7-(bromometil)dispiro[2,0,2,1]heptan (70 g, 93%) ¹H RMN (400 MHz, Cloroform-d) δ 3,49 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 1,90 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 1,06 -

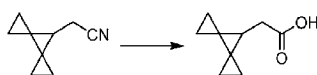
0,84 (m, 4H), 0,71 (ddd, $J = 9,1, 5,1, 4,0$ Hz, 2H), 0,54 (dddd, $J = 8,6, 4,8, 3,8, 1,0$ Hz, 2H). ca ulei limpede galben (70 g, 0,374 mol, randament 93 %).

Etapa 7: 2-Dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilacetonitril



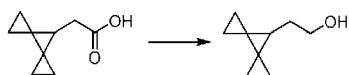
5 Un balon cu fund rotund cu 3 gaturi de 1000 mL a fost echitat cu un agitator mecanic, o baie de răcire utilizată ca izolare secundară, o sondă de temperatură J-Kem și o admisie/evacuare de azot. Vasul a fost încărcat sub o atmosferă de azot cu 7-(bromometil)dispiro[2,0,2,1]heptan (35 g, 187,1 mmol) și dimetil sulfoxid (245 mL) care a furnizat o soluție limpede de culoarea chihlimbarului. Agitarea a fost pornită și temperatura vasului a fost înregistrată la 19°C. Vasul a fost apoi încărcat cu cianură de sodiu (11,46 g, 233,8 mmol) adăugată ca solid într-o porție, ceea ce a condus la o soluție de culoare închisă și o exotermicitate treptată până la 49°C în timp de 15 minute. După câteva minute temperatura vasului a început să scadă și amestecul a continuat să se agite la temperatura camerei peste noapte (aproximativ 15 ore). Amestecul de reacție de culoare închisă a fost stins cu soluție saturată de carbonat de sodiu (500 mL) răcită cu gheață și apoi transferat într-o până de separare și partiționat cu dietil eter (500 mL). Stratul organic a fost îndepărtat și stratul apos rezidual a fost extras cu dietil eter (2 x 250 mL). Stratul organic combinat a fost spălat cu apă (500 mL), uscat pe sulfat de sodiu (200 g) și apoi filtrat printr-o până Buchner cu frită de sticlă. Filtratul limpede de culoarea chihlimbarului a fost concentrat sub presiune redusă (temperatura băii de apă 20°C) pentru a furniza 2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilacetonitril (21 g, 84%) ^1H RMN (400 MHz, Cloroform- d) δ 2,42 (d, $J = 6,6$ Hz, 2H), 1,69 (t, $J = 6,6$ Hz, 1H), 1,02 - 0,88 (m, 4H), 0,79 - 0,70 (m, 2H), 0,66 - 0,55 (m, 2H) ca ulei limpede, de culoarea chihlimbarului închis (21 g, 0,158 mol, randament 84%).

Etapa 8: Acid 2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilacetic



25 Un balon cu fund rotund cu 3 gaturi de 5000 mL a fost echitat cu un agitator mecanic, o manta de încălzire, o sondă de temperatură/controlor J-Kem, un condensator de reflux răcit cu apă și o admisie/evacuare de azot. Vasul a fost ulterior încărcat sub o atmosferă de azot cu 2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilacetonitril (105 g, 788,3 mmol) și alcool etilic (1,05 L) care a furnizat o soluție limpede de culoarea chihlimbarului. Agitarea a fost pornită și temperatura vasului a fost înregistrată la 19°C. Vasul a fost apoi încărcat cu hidroxid de sodiu (525,5 mL de 6 M, 3,153 mol) adăugat într-o porție. Soluția limpede rezultată, de culoarea chihlimbarului a fost încălzită la o temperatură a vasului de 70°C și condițiile au fost menținute timp de 24 ore. După răcire la temperatura camerei, amestecul de reacție a fost concentrat pentru a îndepărta alcoolul etilic. Stratul rezidual apos a fost diluat cu apă (500 ml) și apoi transferat în pâlnia de separare și partiționat cu dietil eter (250 mL). Stratul organic a fost îndepărtat și stratul rezidual apos a fost extras cu dietil eter (250 mL). Stratul apos a fost îndepărtat și pH-ul a fost ajustat la pH~1 cu soluție de HCl 6 M. Soluția apoasă rezultată a fost transferată la pâlnia de separare și partiționată cu dietil eter (500 ml). Stratul organic a fost îndepărtat și stratul apos rezidual a fost extras cu dietil eter (2 x 250 mL). Straturile organice combinate a fost uscate pe sulfat de sodiu (250 g) și apoi filtrate printr-o până Buchner cu frită de sticlă. Filtratul limpede a fost concentrat sub presiune redusă pentru a furniza produsul dorit, acid 2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilacetic (103 g, 86%) ^1H RMN (400 MHz, Cloroform- d) δ 2,44 (d, $J = 6,9$ Hz, 2H), 1,67 (d, $J = 13,8$ Hz, 1H), 0,91 (ddd, $J = 9,0, 5,2, 3,9$ Hz, 2H), 0,81 (ddd, $J = 8,9, 5,2, 3,9$ Hz, 2H), 0,68 (ddd, $J = 8,9, 5,2, 3,9$ Hz, 2H), 0,50 (dddd, $J = 8,9, 5,0, 3,9, 0,9$ Hz, 2H). (103 g, 0,676 mol, randament 86%) ulei limpede de culoarea chihlimbarului care se solidifică după ședere.

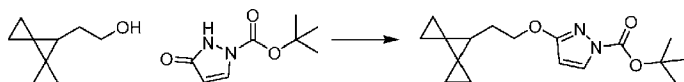
Etapa 9: 2-Dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletanol



50 Un balon cu fund rotund cu 3 gaturi de 1000 mL a fost echipat cu un agitator mecanic, o baie de răcire, o pâlnie de alimentare, o sondă de temperatură J-Kem, și o admisie/evacuare de azot. Vasul a fost încărcat sub o atmosferă de azot cu hidru de litiu aluminiu (6,483 g, 170,8 mmol). Vasul a fost apoi încărcat sub o atmosferă de azot cu tetrahidrofuran (200 mL). Agitarea a fost pornită și temperatura vasului a fost înregistrată la 20°C. Amestecul a fost lăsat să se agite la temperatura camerei timp de 0,5 ore pentru a permite granulelor să se dizolve. Temperatura

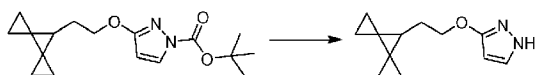
vasului cu suspensia gri rezultată a fost înregistrată ca fiind 24°C. Baia de răcire a fost apoi alimentată cu gheață zdrobită/apă și temperatura vasului a fost scăzută până la 0°C. Pálnia de alimentare a fost încărcată cu o soluție de acid 2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-ilacetic (20 g, 131,4 mmol) în tetrahidrofuran (60 mL, 3 mL/g) și soluția limpede de culoare chihlimbar deschis s-a adăugat în picătură într-o oră. După ce adăugarea a fost completă, temperatura vasului cu suspensia cenușiu-maro rezultată a fost înregistrată ca fiind 5°C. Amestecul a fost lăsat să se încălzească încet la temperatura camerei și a continuat să se agite la RT timp de 24 ore. Suspensia a fost răcită la 0°C cu o baie de răcire cu gheață zdrobită/apă și apoi stinsă prin adăugarea foarte lentă, în picătură de apă (6,483 mL), urmată de soluție de hidroxid de sodiu 15 % în greutate (6,483 mL) și apoi în final apă (19,45 mL). Temperatura suspensiei albe rezultate în vas a fost înregistrată la 5°C. Suspensia a continuat să se agite la ~5°C timp de 30 minute și apoi s-a filtrat printr-o pâlnie Buchner cu frită de sticlă cu un strat de Celite de 20 mm. Turta de filtru a fost spălată prin deplasare cu tetrahidrofuran (2 x 150 mL) și apoi uscată sub presiune redusă timp de 15 minute. Filtratul a fost uscat pe sulfat de sodiu (250 g) și apoi filtrat printr-o pâlnie Buchner cu frită de sticlă. Filtratul a fost concentrat sub presiune redusă pentru a furniza 2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletanol (16,7 g, 92%) ¹H RMN (400 MHz, Cloroform-d) δ 3,63 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 1,68 (q, J = 6,7 Hz, 2H), 1,39 (t, J = 6,6 Hz, 1H), 0,90 - 0,73 (m, 4H), 0,65 (ddd, J = 8,0, 4,8, 3,5 Hz, 2H), 0,57 - 0,43 (m, 2H) ca ulei limpede de culoare chihlimbar deschis. RMN de proton indică 5 % în greutate tetrahidrofuran rezidual (0,95) 17,6 g = 16,7 g (randament 92%)

Eta 10: 3-(2-Dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil



Un balon cu fund rotund cu 3 gaturi de 5000 mL a fost echipat cu un agitator mecanic, o manta de încălzire, o sondă/controlor de temperatură J-Kem, o pâlnie de alimentare, un condensator de reflux răcit cu apă și o admisie/evacuare de azot. Vasul a fost încărcat sub o atmosferă de azot cu 5-oxo-1H-pirazol-2-carboxilat de *terț*-butil (100 g, 542,9 mmol) și tetrahidrofuran (1,200 mL) rezultând o soluție galben pal, limpede. Agitarea a fost pornită și temperatura vasului a fost înregistrată ca fiind 19 °C. Vasul a fost apoi încărcat cu 2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletanol (82,54 g, 597,2 mmol) adăugat pur într-o porție, urmat de trifenilfosfină (156,6 g, 597,1 mmol) adăugată ca solid într-o porție. Soluția limpede galben pal, rezultată a fost apoi tratată cu azodicarboxilat de diizopropil (120,8 g, 597,4 mmol) (lichid roșcat - portocaliu limpede) adăugat pur în picătură în timp de 60 minute ceea ce a condus la o exotermicitate treptată până la 40°C și o soluție limpede de culoare chihlimbar deschis. Amestecul de reacție a fost apoi încălzit la o temperatură a vasului de 50°C și condițiile au fost menținute timp de 2 ore cand analiza prin LC/MS a indicat consumul complet al materiei prime. Amestecul de reacție limpede de culoarea chihlimbarului a fost concentrat sub presiune redusă și uleiul limpede rezultat de culoare chihlimbar închis a fost suspendat în toluen (800 mL) și agitat la temperatura camerei timp de 1 oră, timp în care a precipitat un solid (trifenilfosfină oxid). Suspensia groasă a fost filtrată printr-o pâlnie Buchner cu frită de sticlă și turta de filtru a fost spălată cu deplasare cu toluen (2 x 500 mL) sub vid, timp de încă 30 minute. Turta de filtru, solid alburiu a fost conformă cu trifenilfosfin oxidul, conform LC/MS. Filtratul limpede de culoarea chihlimbarului a fost concentrat sub presiune redusă pentru a furniza un ulei limpede de culoare chihlimbar deschis (175 g). Materialul a fost purificat printr-un strat de silicagel prin flash cromatografie eluând cu un gradient de hexan 100% până la acetat de etil 20% în hexan colectând fracțiuni de 50 mL. Produsul eluează în jur de 5% acetat de etil în hexan. Fracțiunile dorite au fost combinate și concentrate sub presiune redusă pentru a furniza 3-(2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (124 g, 75%) ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,06 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 6,05 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 4,16 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 1,77 (q, J = 6,7 Hz, 2H), 1,55 (s, 9H), 1,43 (t, J = 6,5 Hz, 1H), 0,88 - 0,77 (m, 4H), 0,67 - 0,60 (m, 2H), 0,52 - 0,45 (m, 2H). ESI-MS m/z calc. 304,17868, găsit 305,0 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,18 minute, ca ulei limpede galben pal (124 g, 0,407 mol, randament 75%) care s-a solidificat prin ședere.

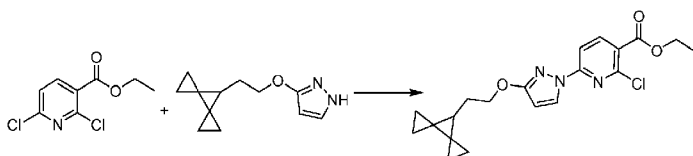
Eta 11: 3-(2-dispiro[2,0,2,1]Heptan-7-iletoxi)-1H-pirazol



Un balon cu fund rotund cu 3 gaturi de 5000 mL a fost echipat cu un agitator mecanic, o manta de încălzire, o sondă/controlor de temperatură J-Kem, un condensator de reflux răcit cu apă, o pâlnie de alimentare, și o admisie/evacuare de azot. Vasul a fost încărcat sub o atmosferă de azot cu 3-(2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (123 g, 404,1 mmol),

diclorometan (492 mL) și alcool metilic (492 mL) rezultând o soluție limpede, galben pal. Agitarea a fost pornită și temperatura vasului a fost înregistrată la 19°C. Pâlnie de alimentare a fost încărcată cu acid clorhidric în 1,4-dioxan (303 mL de 4 M, 1,212 mol), care a fost ulterior adăugat în picătură în 2 ore ceea ce a condus la o exotermicitate treptată până la 30°C. Soluția limpede, galben pal, care a rezultat a fost încălzită la o temperatură a vasului de 45°C și condițiile au fost menținute timp de 1 oră când analiza prin LC/MS a indicat terminarea reacției. Amestecul de reacție a fost lăsat să se răcească la temperatura camerei și apoi concentrat sub presiune redusă. Reziduul solid alb rămas a fost dizolvat în metil *terț*-butil eter (984 mL) și apoi transferat într-o palnie de separare și partiționat cu hidroxid de sodiu răcit cu gheață (606 mL de 2 M, 1,212 mol). Stratul organic a fost îndepărtat și stratul apos rezidual a fost extras cu *terț*-butil metil eter (2 x 250 mL). Stratul organic combinat a fost spălat cu soluție saturată de clorură de sodiu (2 x 100 mL), uscat pe sulfat de sodiu (150 g) și apoi filtrat printr-o pâlnie Buchner cu frită de sticlă. Filtratul limpede galben pal a fost concentrat sub presiune redusă pentru a furniza 3-(2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)-1H-pirazol (77 g, 93%) ESI-MS *m/z* calc. 204,12627, găsit 205,1 (M+1)+; Timp de retenție: 1,53 minute ca ulei limpede galben deschis (77 g, 0,377 mol, randament 93%).

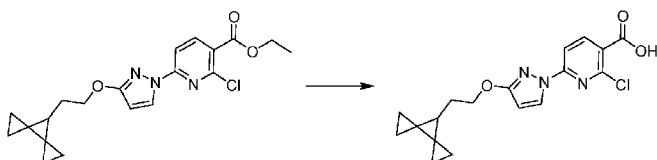
Etapă 12: 2-Cloro-6-[3-(2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de etil



Un balon cu fund rotund cu 3 gaturi de 5000 mL a fost echipat cu un agitator mecanic, o baie de răcire utilizată ca izolație secundară, o sondă de temperatură J-Kem, un condensator de reflux răcit cu apă, o pâlnie de alimentare, și o admisie/evacuare de azot. Vasul a fost încărcat sub o atmosferă de azot cu 3-(2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)-1H-pirazol (64,98 g, 318,1 mmol) și N,N-dimetil formamidă (840 mL) furnizând o soluție limpede, galben pal. Agitarea a fost pornită și temperatura vasului a fost înregistrată la 17°C. Vasul a fost apoi încărcat cu 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de etil (70 g, 318,1 mmol) adăugat ca solid, într-o porție. Soluția limpede galben pal rezultată a fost apoi tratată cu carbonat de potasiu (57,15 g, 413,5 mmol) adăugat ca solid într-o porție, urmat de 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octan (5,353 g, 47,72 mmol) adăugat ca solid într-o porție. Suspensia galben pal rezultată a fost lăsată să se agite la RT timp de 24 ore.

După 24 ore, un balon cu fund rotund cu 3 gaturi de 5000 mL a fost echipat cu un agitator mecanic, o baie de răcire utilizată ca izolație secundară, o sondă de temperatură J-Kem și o pâlnie de alimentare. Vasul a fost încărcat cu apă rece ca gheața (2,800 L) și a fost pornită agitarea. Temperatura vasului a fost înregistrată la 5°C. Pâlnia de alimentare a fost încărcată cu amestecul de reacție, care a fost ulterior adăugat într-o oră conducând la formarea unui precipitat și o exotermicitate până la 15°C. Suspensia rezultată a continuat să se agite la 15°C timp de 30 minute și apoi s-a filtrat printr-o pâlnie Buchner cu frită de sticlă. Turta de filtru a fost spălată cu apă (3 x 500 mL) cu deplasare și apoi uscată sub presiune redusă în pâlnia Buchner timp de 2 ore. Materialul a fost apoi uscat sub vid peste noapte pentru a furniza (137 g) un solid albicios ca produs brut. Materialul a fost purificat prin cromatografie rapidă cu strat de silicagel (15:1) într-o pâlnie Buchner cu frită de sticlă eluând cu un gradient de hexan 100% până la 10% acetat de etil în hexan colectând fracțiuni de 1000 mL. Fracțiunile dorite au fost combinate și concentrate sub presiune redusă pentru a furniza 2-cloro-6-[3-(2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de etil (121 g, 98%) ESI-MS *m/z* calc. 387,13498, găsit 388,1 (M+1)+; Timp de retenție: 3,57 minute ca solid alb.

Etapă 13: Acid 2-cloro-6-[3-(2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic



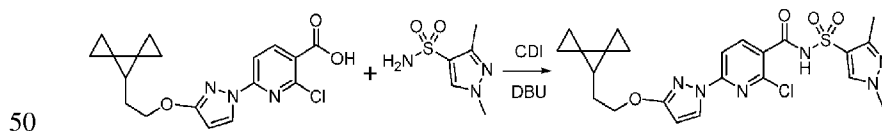
Un balon cu fund rotund cu 3 gaturi de 5000 mL a fost echipat cu un agitator mecanic, o manta de încălzire, o sondă/controlor de temperatură J-Kem, o pâlnie de alimentare, un condensator de reflux răcit cu apă, și o admisie/evacuare de azot. Vasul a fost încărcat sub o

atmosferă de azot cu 2-cloro-6-[3-(2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de etil (155 g, 399,6 mmol), tetrahidrofuran (1,240 mL) și alcool metilic (1,240 mL) care au furnizat o soluție limpede de culoare chihlimbar deschis. Agitarea a fost pornită și temperatura vasului a fost înregistrată la 19°C. Pâlnia de alimentare a fost încărcată cu hidroxid de sodiu (399,6 mL de 2 M, 799,2 mmol) care a fost ulterior adăugat în timp de 15 minute ceea ce a condus la o exotermicitate treptată până la 27°C. Amestecul de reacție limpede de culoare chihlimbar deschis a fost încălzit la o temperatură a vasului de 40°C timp de 30 minute. Analiza prin LC/MS a indicat consumul complet al materiei prime. Amestecul de reacție a fost concentrat sub presiune redusă pentru a îndepărta cea mai mare parte din solventul organic. Suspensia apoasă rămasă a fost diluată în plus cu apă (1000 mL). PH-ul a fost apoi ajustat la pH~1 cu soluție de HCl 2 M răcită cu gheață. Suspensia foarte groasă rezultată a fost filtrată în vid printr-o palnie Buchner cu frită de sticlă. Turta de filtru a fost spălată cu apă (2 x 250 mL) cu deplasare și apoi uscată sub presiune redusă timp de 45 minute. Materialul a fost dizolvat în diclorometan (1000 mL) și transferat într-o palnie de separare și partiționat cu soluție saturată de clorură de sodiu (250 mL). Stratul organic a fost îndepărtat și uscat pe sulfat de sodiu (250 g) și apoi filtrat printr-o palnie Buchner cu frită de sticlă. Filtratul limpede a fost concentrat sub presiune redusă pentru a furniza acid 2-cloro-6-[3-(2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (143 g, 97%) ESI-MS m/z calc. 359,10367, găsit 360,1 (M+1)+; Timp de retenție: 2,97 minute a unui solid alb. analiză HPLC indicat arie 97,12 %, Randament real: 0,9712 (143) = 138,9 g (randament 96%)

Recristalizarea acidului 2-cloro-6-[3-(2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic

Acid 2-cloro-6-[3-(2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (143 g, 397,4 mmol) a fost dizolvat în diclorometan (1000 mL) furnizând o soluție limpede, galben pal. Soluția a fost filtrată în vid printr-o palnie Buchner cu hârtie Whatman pentru a îndepărta orice impurități solide. Soluția în diclorometan, limpede, de a fost concentrată sub presiune redusă pentru a furniza un solid alb. Solidul a fost apoi concentrat sub presiune redusă din toluen (1000 mL). Solidul rezultat a fost din nou concentrat sub presiune redusă din toluen (1000 mL) furnizând un solid alb. Un balon cu fund rotund cu 3 gaturi de 5000 mL a fost echipat cu un agitator mecanic, o manta de încălzire, o sondă/controlor de temperatură J-Kem, o palnie de alimentare, un condensator de reflux răcit cu apă și o admisie/evacuare de azot. Vasul a fost încărcat sub o atmosferă de azot cu acid 2-cloro-6-[3-(2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (143 g, 0,3974 mol) și toluen (1430 mL) (10 mL/g) care a furnizat o suspensie albă. Agitarea a fost pornită (rotație lentă) și temperatura vasului a fost crescută la reflux (110°C) rezultând o soluție galben pal puțin tulbure. Soluția a fost menținută la reflux timp de 15 minute și apoi lăsată să se răcească foarte încet la temperatura camerei. Procesul de răcire de la 110°C la temperatura camerei a fost făcut pe o perioadă de timp de 6 ore. A început să se formeze un solid când temperatura vasului a înregistrat 90°C. Materialul a fost colectat prin filtrare în vid într-o palnie Buchner cu hârtie Whatman. Turta de filtru a fost spălată cu toluen cu deplasare (125 mL) și apoi aspirată în pâlnia Buchner timp de 1 oră pentru a furniza acid 2-cloro-6-[3-(2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (113 g, 79%) ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,59 (s, 1H), 8,56 - 8,33 (m, 2H), 7,71 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,17 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 4,24 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 1,82 (q, J = 6,7 Hz, 2H), 1,47 (t, J = 6,5 Hz, 1H), 0,95 - 0,75 (m, 4H), 0,72 - 0,58 (m, 2H), 0,60 - 0,44 (m, 2H). ESI-MS m/z calc. 359,10367, găsit 360,1 (M+1)+; Timp de retenție: 2,98 minute (113 g, 0,314 mol, recuperare 79%) al unui solid alb. Analiza HPLC a indicat arie 99,45%.

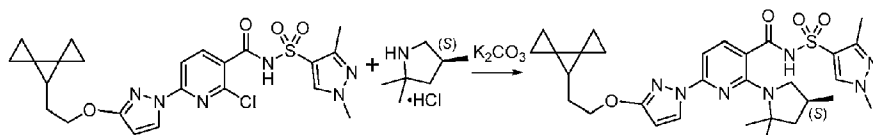
Etapa 14: 2-Cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă



Acid 2-cloro-6-[3-(2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (20 mg, 0,05559 mmol) și carbonil diimidazol (13,52 mg, 0,08338 mmol) s-au combinat în THF (260 μL) și s-au agitat la temperatura camerei timp de o oră. S-a adăugat 1,3-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (97,4 mg, 0,5559 mmol) urmată de DBU (42,34 mg, 0,2781 mmol), și masa de reacție a fost agitată timp de încă trei ore. Amestecul de reacție a fost diluat cu acid citric 1 M și extras de două ori cu acetat de etil. Organicele combinate au fost spălate cu apă și saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și concentrate pentru a da 2-cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(2-

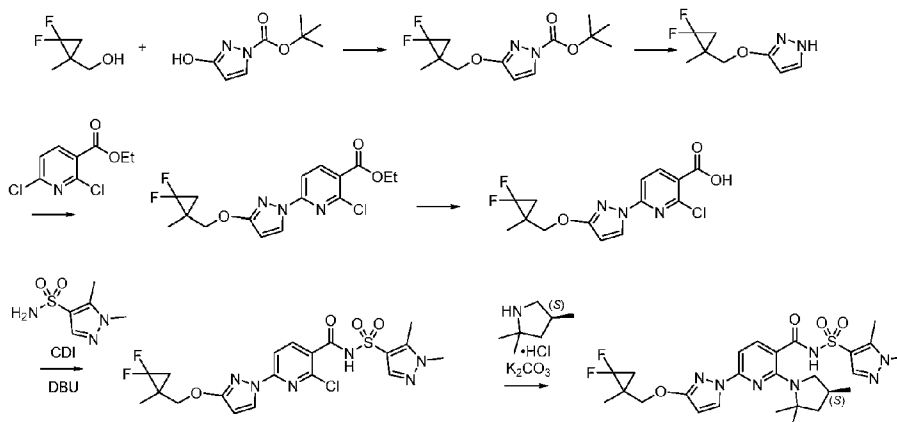
dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (28,74 mg, 100%) ESI-MS m/z calc. 516,13464, găsit 517,0 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,77 minute, ca solid alb, care a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară.

Etapă 15: *N*-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă

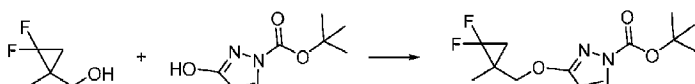


2-Cloro-*N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (28,74 mg, 0,05559 mmol), (4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (81,79 mg, 0,5465 mmol), site moleculare de trei angstromi (1 boabă), și carbonat de potasiu (150,1 mg, 1,086 mmol) s-au combinat în DMSO (492,6 μ L) și s-au încălzit la 165 °C timp de 16 ore. Amestecul de reacție brut a fost răcit la temperatura camerei, filtrat și apoi a fost purificat direct prin cromatografie cu fază inversă preparativă utilizând o coloană C18 și metodă HPLC 50-99 (acetonitril -(apă + 5 mmol HCl)) în timp de 15 minute pentru a da un solid alb de *N*-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(2-dispiro[2,0,2,1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (13 mg, 39%) ESI-MS m/z calc. 593,27844, găsit 594,2 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,38 minute.

Sinteză de 6-[3-[(2,2-Difluoro-1-metil-ciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]-*N*-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 24)



Etapă 1: 3-[(2,2-Difluoro-1-metil-ciclopropil)metoxi]pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil

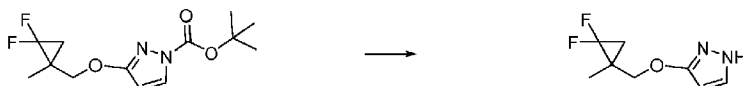


3-Hidroxi-pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (1,00 g, 5,429 mmol), (2,2-difluoro-1-metil-ciclopropil)metanol (aproximativ 729,3 mg, 5,972 mmol), și trifenilfosfină (aproximativ 1,994 g, 1,761 mL, 7,601 mmol) au fost combinate și dizolvate în THF (10 mL). Soluția rezultată a fost răcită la 0 °C, și s-a adăugat în picătură DIAD (aproximativ 1,537 g, 1,472 mL, 7,601 mmol). Amestecul de reacție a fost lăsat să se încălzească încet la temperatura camerei și a fost agitat peste noapte.

Volatile au fost evaporate sub presiune redusă. Reziduul rămas a fost dizolvat în acetat de etil (50 mL) și spălat cu bicarbonat de sodiu apos saturat (2× 50 mL) și saramură (2× 50 mL). Stratul organic a fost uscat pe sulfat de sodiu, filtrat, și concentrat sub presiune redusă. Produsul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană cu silicagel eluând cu un gradient EtOAc/hexan 0-25% pe o coloană cu silicagel de 80 grame. S-a obținut 3-[(2,2-difluoro-1-metil-ciclopropil)metoxi]pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (1,27 g, 75%) ca ulei incolor, limpede. ESI-MS m/z calc. 288,12854, găsit 289,2 (M+1)⁺; Timp de retenție: 1,75 minute.

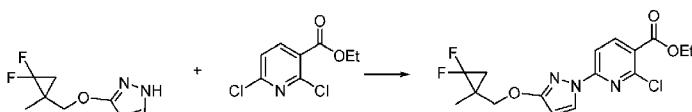
¹H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8,10 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 6,15 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 4,32 (dt, J = 10,8, 2,4 Hz, 1H), 4,08 (d, J = 10,9 Hz, 1H), 1,66 (dt, J = 11,4, 7,8 Hz, 1H), 1,55 (s, 9H), 1,39 (dt, J = 10,2, 7,5 Hz, 1H), 1,30 (d, J = 2,3 Hz, 3H).

Etapă 2: 3-[(2,2-Difluoro-1-metil-ciclopropil)metoxi]-1*H*-pirazol



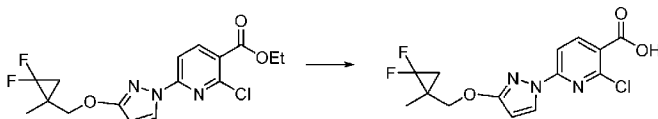
3-[(2,2-Difluoro-1-metil-ciclopropil)metoxi]pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (1,27 g, 4,405 mmol) a fost dizolvat în 1,2-dimetoxietan (15,88 mL). S-a adăugat o soluție de carbonat de sodiu (aproximativ 750,7 mg, 7,083 mmol) în apă (4,762 mL). Flaconul de reacție a fost etanșat și încălzit peste noapte la 90 °C și apoi timp de o zi la 100 °C. Amestecul de reacție a fost răcit la temperatura camerei și diluat cu apă (50 mL) și acetat de etil (50 mL). Stratul organic a fost izolat, și stratul apos a fost extras cu acetat de etil (2× 50 mL). Organicele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și concentrate. Produsul a fost purificat prin cromatografie pe coloană cu silicagel eluând cu un gradient de EtOAc/hexan 0-100% pe o coloană cu silicagel 80 de grame. S-a obținut 3-[(2,2-difluoro-1-metil-ciclopropil)metoxi]-1H-pirazol (490 mg, 59%) ca ulei limpede, galben deschis. ESI-MS *m/z* calc. 188,07613, găsit 189,0 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 1,01 minute.

Etapă 3: 2-Cloro-6-[3-[(2,2-difluoro-1-metil-ciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de etil



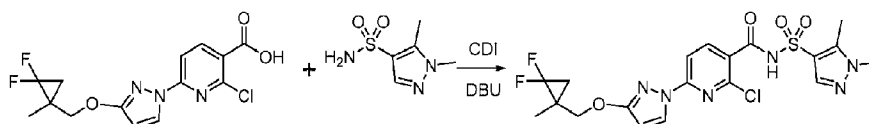
3-[(2,2-Difluoro-1-metil-ciclopropil)metoxi]-1H-pirazol (490 mg, 2,604 mmol) a fost dizolvat în DMF (5 mL). S-a adăugat 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de etil (aproximativ 573,0 mg, 2,604 mmol) urmat de 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octan (aproximativ 58,42 mg, 0,5208 mmol) și carbonat de potasiu fin mărunțit (aproximativ 539,8 mg, 3,906 mmol). Amestecul de reacție a fost lăsat să se agite peste noapte la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost diluat cu apă (50 mL) și extras cu EtOAc (2× 50 mL). Straturile organice combinate au fost apoi spălate cu saramură (1× 75 mL), uscate pe sulfat de sodiu, filtrate, și concentrate sub presiune redusă. Produsul brut a fost izolat prin cromatografie pe coloană cu silicagel eluând cu un gradient de EtOAc/hexan 0-20% pe o coloană cu silicagel 40 grame. S-a obținut 2-cloro-6-[3-[(2,2-difluoro-1-metil-ciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de etil (797 mg, 82%) ca solid alb. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,46 (dd, *J* = 2,8, 0,9 Hz, 1H), 8,41 (dd, *J* = 8,4, 0,9 Hz, 1H), 7,75 (dd, *J* = 8,5, 0,9 Hz, 1H), 6,27 (dd, *J* = 2,9, 0,9 Hz, 1H), 4,44 - 4,37 (m, 1H), 4,37 - 4,31 (m, 2H), 4,17 (d, *J* = 10,8 Hz, 1H), 1,67 (q, *J* = 8,9 Hz, 1H), 1,42 (q, *J* = 8,4 Hz, 1H), 1,38 - 1,30 (m, 6H). ESI-MS *m/z* calc. 371,08484, găsit 372,0 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 2,09 minute.

Etapă 4: Acid 2-cloro-6-[3-[(2,2-difluoro-1-metil-ciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic



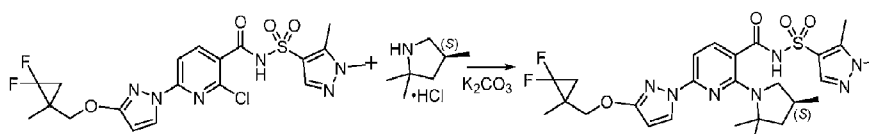
O soluție de hidroxid de sodiu (aproximativ 428,8 mg, 10,72 mmol) în apă (3,985 mL) s-a adăugat la o soluție de 2-cloro-6-[3-[(2,2-difluoro-1-metil-ciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de etil (797 mg, 2,144 mmol) în izopropanol (3,985 mL) agitând la 90 °C. Amestecul de reacție a fost lăsat să se agite la 85 °C timp de 30 minute. După răcire la temperatura camerei, amestecul de reacție a fost diluat cu EtOAc (50 mL) și extras cu NaOH apos (1 N, 2× 50 mL). Straturile apoase au fost combinate, răcite la 0 °C, și acidulate la pH 1 cu adăugare de HCl 6 N. Solidele au fost colectate prin filtrare. Solidele obținute din stratul apos au fost dizolvate în EtOAc și adăugate la stratul organic. Acesta a fost apoi uscat pe sulfat de sodiu, filtrat și concentrat sub presiune redusă. S-a obținut acid 2-cloro-6-[3-[(2,2-difluoro-1-metil-ciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (950 mg, 129%) ca solid alb. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,34 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 7,93 (dd, *J* = 8,2, 1,8 Hz, 1H), 7,55 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 6,13 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 4,37 (dt, *J* = 10,8, 2,3 Hz, 1H), 4,14 (d, *J* = 10,8 Hz, 1H), 1,64 (dd, *J* = 10,4, 7,9 Hz, 1H), 1,40 (q, *J* = 8,1 Hz, 1H), 1,33 (d, *J* = 2,1 Hz, 3H). ESI-MS *m/z* calc. 343,05353, găsit 344,2 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 0,63 minute.

Etapă 5: 2-Cloro-6-[3-[(2,2-difluoro-1-metil-ciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]-*N*-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă



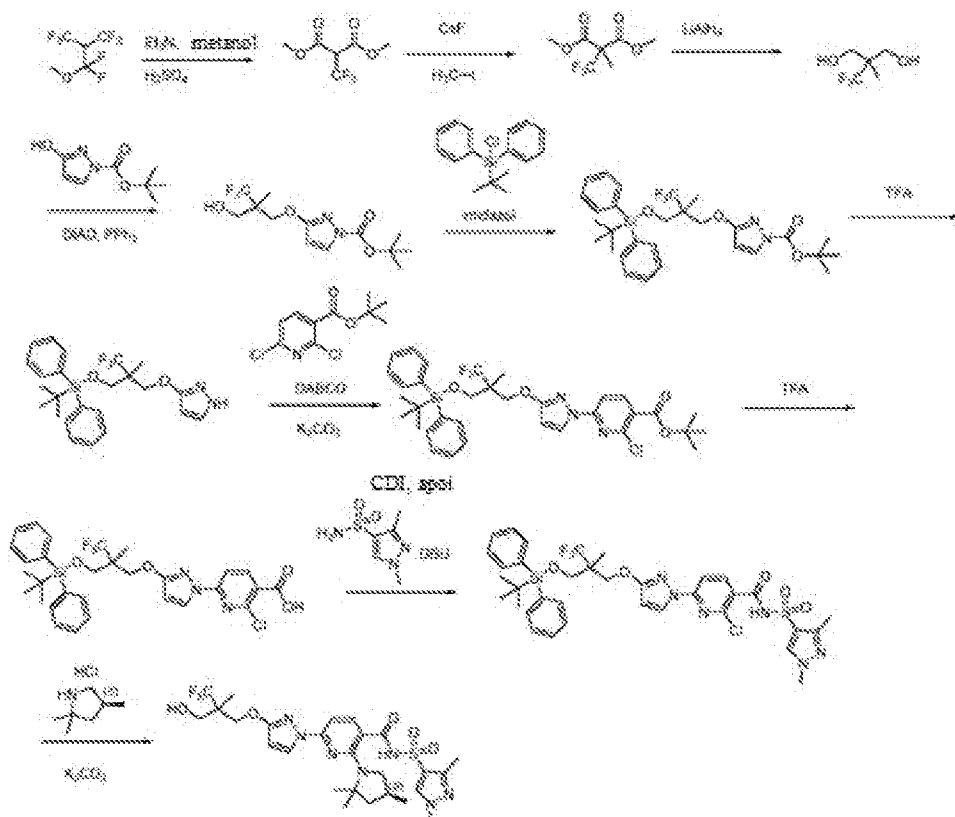
Carbonil diimidazol (aproximativ 28,31 mg, 0,1746 mmol) s-a adăugat la o soluție de acid 2-cloro-6-[3-[(2,2-difluoro-1-metil-ciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (50 mg, 0,1455 mmol) în THF (2 mL). Soluția a fost lăsată să se agite la temperatura camerei timp de 1 oră. S-a adăugat 1,5-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (aproximativ 33,15 mg, 0,1891 mmol) urmată de DBU (aproximativ 26,58 mg, 26,11 μ L, 0,1746 mmol). Amestecul final de reacție a fost apoi lăsat să se agite peste noapte la temperatura camerei. Volatile au fost îndepărtate prin evaporare. Reziduul rămas a fost diluat cu acetat de etil (2 mL) și spălat cu acid apos citric (1 M, 2×2 mL) și saramură (1×2 mL). Stratul organic a fost uscat pe sulfat de sodiu, filtrat, și concentrat sub presiune redusă. Produsul a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară. S-a obținut 2-cloro-6-[3-[(2,2-difluoro-1-metilciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă (61 mg, 83,70%). ESI-MS m/z calc. 500,0845, găsit 501,0 (M+1)⁺; Timp de retenție: 1,67 minute.

Etapă 6: 6-[3-[(2,2-Difluoro-1-metil-ciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă

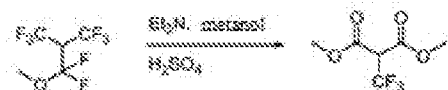


2-Cloro-6-[3-[(2,2-difluoro-1-metil-ciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă (61 mg, 0,1218 mmol) a fost dizolvat în DMSO (2 mL). S-a adăugat (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (aproximativ 54,69 mg, 0,3654 mmol) urmată de carbonat de potasiu fin mărunțit (aproximativ 101,0 mg, 0,7308 mmol). Flaconul de reacție a fost etanșat și lăsat să se agite peste noapte la 130 °C. Amestecul de reacție a fost diluat cu acetat de etil (50 mL) și spălat cu acid apos citric (1 N, 2×50 mL) și saramură (1×50 mL). Stratul organic a fost uscat pe sulfat de sodiu, filtrat și concentrat sub presiune redusă. Produsul a fost izolat prin cromatografie pe coloană cu silicagel eluând cu un gradient de MeOH/DCM 0-5% pe o coloană cu silicagel de 24 grame pentru a da 6-[3-[(2,2-difluoro-1-metil-ciclopropil)metoxi]pirazol-1-il]-N-(1,5-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (20,3 mg, 28,85%) ESI-MS m/z calc. 577,2283, găsit 578,5 (M+1)⁺; Timp de retenție: 1,99 minute.

Sinteză de N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[3,3,3-trifluoro-2-(hidroximetil)-2-metil-propoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 45)



Etapă 1: 2-(Trifluorometil)propandioat de dimetil



5

2-[Difluoro(metoxi)metil]-1,1,1,3,3,3-hexafluoro-propan (4,64 g, 19,99 mmol) a fost dizolvat în DMF anhidră (4 mL) și răcit într-o baie de gheață. S-a adăugat în picătură prin seringă trietilamină (5,6 mL, 40,18 mmol), urmată de adăugare în picătură de metanol (4 mL, 98,75 mmol) și s-a continuat agitarea la 0 °C timp de 90 de minute. Amestecul de reacție a fost turnat într-o pâlnie de separare cu 70 mL apă, și stratul organic rezultat a fost separat. Stratul apos a fost extras suplimentar cu dietil eter 2x 40 mL, și organicele au fost combinate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Apoi la uleiul rezultat s-a adăugat acid sulfuric (0,5 mL, 9,380 mmol), și masa de reacție a fost agitată la temperatura camerei timp de 16 ore. Amestecul de reacție a fost apoi turnat în 40 mL apă rece și extras cu dietil eter 3x20mL. Organicele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și concentrate. Materialul brut a fost apoi purificat prin cromatografie pe silice utilizând un gradient de acetat de etil 0-90% în hexani pentru a da un ulei incolor, cu puțin solvent rămas, dar utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară. 2-(Trifluorometil)propandioat de dimetil (1,79 g, 45%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 5,39 (q, J = 8,7 Hz, 1H), 3,78 (s, 6H).

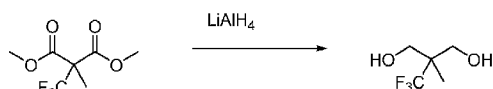
20 Etapă 2: 2-Metil-2-(trifluorometil)propandioat de dimetil



2-(Trifluorometil)propandioat de dimetil (1,79 g, 8,945 mmol) și iodometan (640 μL, 10,28 mmol) au fost combinate în bis(2-metoxietil)eter (18 mL), și s-a adăugat într-o porție fluorură de cesiu (4,1 g, 26,99 mmol). Amestecul de reacție a fost apoi agitat timp de 16 ore la temperatura camerei. După acest timp amestecul de reacție a fost diluat cu 100 mL apă și 100 mL dietil eter, și organicele au fost separate. Stratul apos a fost extras suplimentar cu 50 mL dietil eter și organicele au fost combinate și spălate cu 50 mL apă, apoi cu saramură, și uscate pe sulfat de sodiu. După filtrare, amestecul de reacție a fost concentrat pentru a da 6 g de ulei brut. Materialul

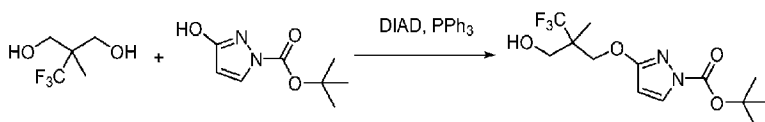
brut a fost supus la cromatografie pe coloană pe silice utilizând un gradient de acetat de etil 0-100% în hexani. Frațiunile au fost combinate și concentrate. Uleiul rezultat a fost apoi diluat cu 250 mL dietil eter și spălat cu apă 10x50mL și saramură 1x50 mL pentru a îndepărta bis(2-metoxietil)eterul care a rămas după cromatografie. Organicele au fost concentrate și uscate pe sulfat de sodiu pentru a da un ulei galben deschis (cu puțini solvenți reziduali rămași). Materialul a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară. 2-Metil-2-(trifluorometil)propandioat de dimetil (880 mg, 46%). ^1H RMN (400 MHz, DMSO) δ 3,79 (s, 6H), 1,65 (q, J = 0,8 Hz, 3H).

Etape 3: 2-Metil-2-(trifluorometil)propan-1,3-diol



2-Metil-2-(trifluorometil)propandioat de dimetil (880 mg, 4,109 mmol), dizolvat în THF anhidru (8,218 mL), s-a adăugat în picătură la o soluție de hidru de litiu aluminu (8 mL de 2 M, 16,00 mmol) (în THF) la 0 °C. După 20 minute, amestecul de reacție a fost lăsat să se încălzească la temperatura camerei, și agitat timp de încă 5 ore. Amestecul de reacție a fost apoi răcit din nou la 0 °C, și stins cu grijă cu 2 mL apă, și 2 mL NaOH 1M. După agitare timp de 20 minute la temperatura camerei, amestecul de reacție a fost diluat cu dietil eter, filtrat prin Celite, apoi uscat bine pe sulfat de sodiu și concentrat. Acest material brut a fost apoi purificat prin cromatografie pe silicagel utilizând un gradient de acetat de etil 0-100% în hexani, dând un solid incolor. 2-Metil-2-(trifluorometil)propan-1,3-diol (280 mg, 43%). ^1H RMN (400 MHz, DMSO) δ 4,87 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 3,54 - 3,43 (m, 4H), 0,97 (d, J = 0,7 Hz, 3H).

Etape 4: 3-[3,3,3-Trifluoro-2-(hidroximetil)-2-metil-propoxi]pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil



2-Metil-2-(trifluorometil)propan-1,3-diol (278 mg, 1,758 mmol), 3-hidroxipirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (324 mg, 1,759 mmol), și PPh_3 (507 mg, 1,933 mmol) s-au dizolvat în THF (11,72 mL), și s-au răcit la 0 °C într-o baie de gheață. S-a adăugat în picătură prin seringă DIAD (358 μL , 1,848 mmol), și amestecul de reacție a fost lăsat să se încălzească încet la temperatura camerei și a fost agitat timp de 16 h. UPLC/LCMS a arătat o conversie foarte scăzută la produsul dorit, și temperatura reacției a fost crescută la 60 °C. Conversia la produs a crescut, apoi a stagnat după 7 ore. Masa de reacție a fost îndepărtată de la căldură, și solventul a fost îndepărtat sub presiune redusă. Uleiul rămas a fost apoi dizolvat în 60 mL acetat de etil, și spălat cu 50 mL NaOH 1N. Stratul apos a fost extras suplimentar cu acetat de etil 2x40mL, și organicele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Materialul brut a fost apoi purificat prin cromatografie pe silicagel, utilizând un gradient de acetat de etil 0-100% în hexani. Frațiunile pure au fost combinate și concentrate pentru a da 3-[3,3,3-trifluoro-2-(hidroximetil)-2-metil-propoxi]pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (115 mg, 20%) ESI-MS m/z calc. 324,1297, găsit 325,3 ($M+1$); Timp de retenție: 0,58 minute. ^1H RMN (400 MHz, DMSO) δ 8,11 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 6,14 (d, J = 3,0 Hz, 1H), 5,22 (t, J = 5,6 Hz, 1H), 4,34 - 4,19 (m, 2H), 3,65 (dd, J = 11,2, 5,7 Hz, 1H), 3,53 (dd, J = 11,2, 5,6 Hz, 1H), 1,55 (s, 9H), 1,14 (s, 3H).

Etape 5: 3-[2-[[*terț*-Butil(difenil)silil]oximetil]-3,3,3-trifluoro-2-metil-propoxi]pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil

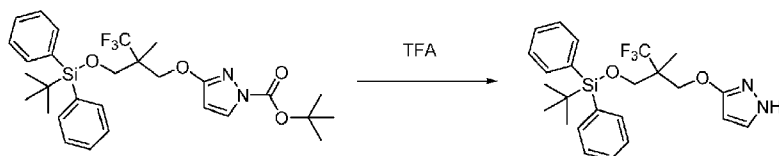


3-[3,3,3-Trifluoro-2-(hidroximetil)-2-metil-propoxi]pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (113 mg, 0,3484 mmol) și imidazol (47 mg, 0,6904 mmol) s-au dizolvat în DMF (696,8 μL) și s-au răcit într-o baie de gheață. Apoi s-a adăugat într-o singură porțiune *terț*-butil-cloro-difenilsilan (110 μL , 0,4230 mmol), și după 15 minute baia cu gheață a fost îndepărtată și amestecul de reacție a fost lăsat să se agite 16 ore la temperatura camerei. S-au adăugat 2 mL de clorură de amoniu apoasă saturată și masa de reacție a fost agitată timp de 10 minute, apoi diluată cu dietil eter (50 mL) și clorură de amoniu saturată suplimentară (10mL) și apă (30mL). Straturile au fost separate, și porțiunea apoasă a fost extrasă încă de două ori cu eter, apoi organicele combinate au fost

spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și concentrate. Uleiul rezultat a fost purificat prin cromatografie pe silicagel utilizând un gradient de acetat de etil în hexani 0-20%, pentru a da un ulei incolor, (impuritate neidentificată prezentă, dar utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară)

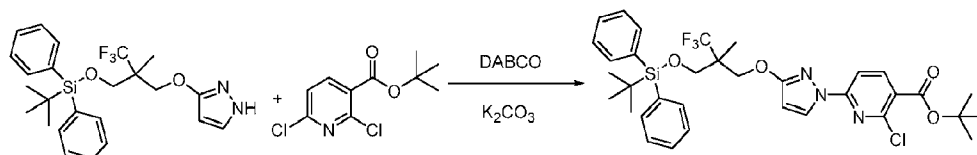
- 5 3-[2-[[*terț*-butil(difenil)silil]oximetil]-3,3,3-trifluoro-2-metil-propoxi]pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (195 mg, 99%). ESI-MS *m/z* calc. 562,2475, găsit 563,4 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,97 minute

Etapă 6: *terț*-Butil-difenil-[3,3,3-trifluoro-2-metil-2-(1H-pirazol-3-iloximetil)propoxi]silan



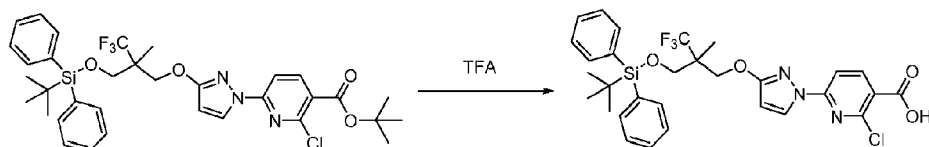
- 10 3-[2-[[*terț*-Butil(difenil)silil]oximetil]-3,3,3-trifluoro-2-metil-propoxi]pirazol-1-carboxilat de *terț*-butil (195 mg, 0,3465 mmol) a fost dizolvat în DCM (4,062 mL) cu TFA (350 μ L, 4,543 mmol) și masa de reacție a fost agitată la temperatura camerei timp de 60 minute. S-au adăugat hexani (1 mL), și masa de reacție a fost evaporată. Uleiul rezultat a fost partiționat între acetat de etil (10 mL) și o soluție saturată de bicarbonat de sodiu (10 mL). Organicele au fost
- 15 separate, și stratul apos a fost extras cu 2x10mL acetat de etil suplimentar. Organicele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și evaporate pentru a da un ulei incolor (cu o impuritate neidentificată prezentă, dar utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară), *terț*-butil-difenil-[3,3,3-trifluoro-2-metil-2-(1H-pirazol-3-iloximetil)propoxi]silan (159 mg, 99%) ESI-MS *m/z* calc. 462,19504, găsit 463,4 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,86 minute.

- 20 **Etapă 7: 6-[3-[2-[[*terț*-Butil(difenil)silil]oximetil]-3,3,3-trifluoro-2-metil-propoxi]pirazol-1-il]-2-cloro-piridin-3-carboxilat de *terț*-butil**



- 25 Un flacon purjat cu azot a fost încărcat cu *terț*-butil-difenil-[3,3,3-trifluoro-2-metil-2-(1H-pirazol-3-iloximetil)propoxi]silan (159 mg, 0,3437 mmol), 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de *terț*-butil (110 mg, 0,4434 mmol), K₂CO₃ (76 mg, 0,5499 mmol) (proaspăt mărunțit într-un mojar) și DMF anhidră (572,8 μ L). S-a adăugat DABCO (7 mg, 0,06240 mmol) și amestecul a fost agitat la temperatura camerei sub azot timp de 16 ore. Amestecul de reacție a fost diluat cu acetat de etil (50 mL) și apă (50 mL) și cele două faze au fost separate. Faza apoasă a fost extrasă suplimentar
- 30 cu acetat de etil (2 x 30 mL). Extractele combinate au fost spălate cu saramură și uscate pe sulfat de sodiu, și solventul a fost îndepărtat sub presiune redusă. Materialul a fost supus la flash cromatografie pe silicagel utilizând un gradient de acetat de etil (0-5%) în hexani. Frațiunile pure au fost combinate și solvenții au fost îndepărtați sub presiune redusă pentru a furniza 6-[3-[2-[[*terț*-butil(difenil)silil]oximetil]-3,3,3-trifluoro-2-metil-propoxi]pirazol-1-il]-2-cloro-piridin-3-
- 35 carboxilat de *terț*-butil (170 mg, 73%) ESI-MS *m/z* calc. 673,23505, găsit 674,5 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,87 minute. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 8,46 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 8,33 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,73 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,59 (dt, J = 8,1, 1,8 Hz, 4H), 7,50 - 7,40 (m, 6H), 6,25 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 4,55 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 4,45 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 3,87 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 3,76 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 1,57 (s, 9H), 1,23 (s, 3H), 0,96 (s, 9H).

- 40 **Etapă 8: Acid 6-[3-[2-[[*terț*-butil(difenil)silil]oximetil]-3,3,3-trifluoro-2-metil-propoxi]pirazol-1-il]-2-cloro-piridin-3-carboxilic**

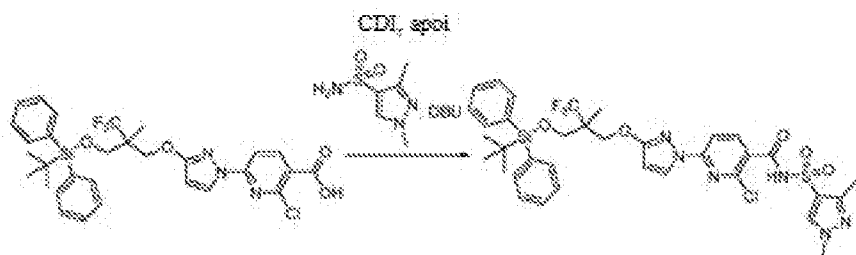


- 45 6-[3-[2-[[*terț*-Butil(difenil)silil]oximetil]-3,3,3-trifluoro-2-metil-propoxi]pirazol-1-il]-2-cloro-piridin-3-carboxilat de *terț*-butil (170 mg, 0,2521 mmol) și TFA (450 μ L, 5,841 mmol) au fost combinate în diclorometan (1,703 mL) și agitate la temperatura camerei timp de 4 ore. Masa de reacție a fost evaporată. S-au adăugat hexani și amestecul s-a evaporat din nou pentru a da un solid alb, acid 6-[3-[2-[[*terț*-butil(difenil)silil]oximetil]-3,3,3-trifluoro-2-metil-propoxi]pirazol-1-

il]-2-cloro-piridin-3-carboxilic (117 mg, 75%) ESI-MS m/z calc. 617,1724, găsit 618,5 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,63 minute.

Etapa 9: 6-[3-[2-[[*terț*-Butil(difenil)silil]oximetil]-3,3,3-trifluoro-2-metil-propoxi]pirazol-1-il]-2-cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă

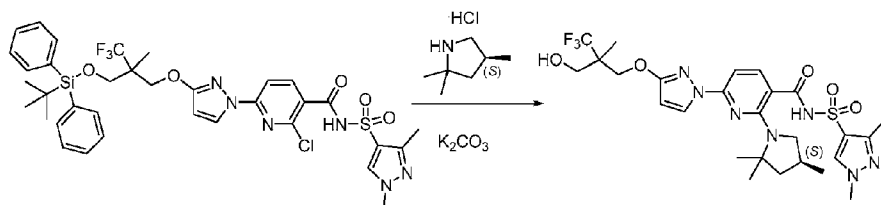
5



Acid 6-[3-[2-[[*terț*-butil(difenil)silil]oximetil]-3,3,3-trifluoro-2-metil-propoxi]pirazol-1-il]-2-cloro-piridin-3-carboxilic (40 mg, 0,06471 mmol) și CDI (14 mg, 0,08634 mmol) au fost combinate în THF (200 μ L) și agitate la temperatura camerei timp de 2 ore. S-a adăugat 1,3-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (14 mg, 0,07990 mmol) urmată de DBU (13 μ L, 0,08693 mmol) și masa de reacție a fost agitată timp de încă 2 h la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost diluat cu 10 mL acid citric 1 M, și extras cu acetat de etil 3x 10 mL. Organicele combinate au fost spălate cu apă, saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și concentrate pentru a da un solid alb, care a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară (puțină materie primă rămasă). 6-[3-[2-[[*terț*-Butil(difenil)silil]oximetil]-3,3,3-trifluoro-2-metil-propoxi]pirazol-1-il]-2-cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă (48 mg, 96%) ESI-MS m/z calc. 774,2034, găsit 775,5 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,6 minute

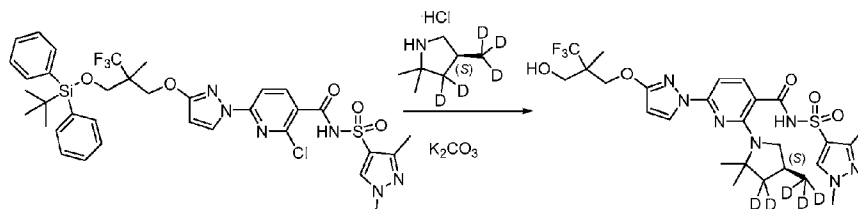
Etapa 10: N-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[3,3,3-trifluoro-2-(hidroximetil)-2-metil-propoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă

20

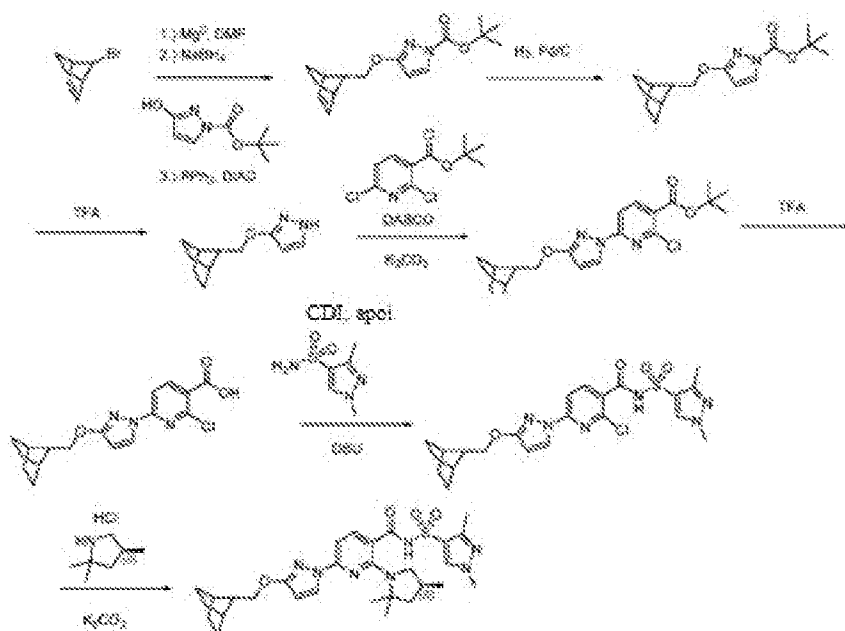


6-[3-[2-[[*terț*-Butil(difenil)silil]oximetil]-3,3,3-trifluoro-2-metil-propoxi]pirazol-1-il]-2-cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă (48 mg, 0,06191 mmol), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (sare clorhidrat) (56 mg, 0,3742 mmol), și carbonat de potasiu (103 mg, 0,7453 mmol) s-au combinat în DMSO (154,8 μ L) și s-au încălzit la 130 °C timp de 9 ore. Masa de reacție a fost răcită la temperatura camerei și diluată cu 15 mL acid citric 1M și 20 mL acetat de etil. Stratul apos și cel organic au fost separate, și stratul apos a fost extras încă de două ori cu 15 mL acetat de etil. Organicele au fost combinate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Amestecul de reacție a fost purificat prin cromatografie pe silicagel (eluand cu metanol 0-10% în DCM), și a fost izolată o porțiune din produsul care a fost desililat în condițiile de reacție. Acest material a fost purificat suplimentar prin HPLC Prep (1-99ACN) HCl modificador, pentru a da, după extragere cu acetat de etil și concentrare sub presiune redusă, N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-[3,3,3-trifluoro-2-(hidroximetil)-2-metil-propoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1 il]piridin-3-carboxamidă (8 mg, 21%) ESI-MS m/z calc. 613,22943, găsit 614,4 (M+1)⁺; Timp de retenție: 1,81 minute. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 12,36 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 2,71 - 2,62 (m, 1H), 8,21 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,74 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,16 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 5,27 - 5,18 (m, 1H), 4,38 - 4,25 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,67 (dd, J = 11,1, 5,7 Hz, 1H), 3,56 (dd, J = 11,2, 5,6 Hz, 1H), 2,41 (s, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,17 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 1,87 (dd, J = 12,0, 5,6 Hz, 1H), 1,55 (d, J = 11,3 Hz, 6H), 1,43 (d, J = 12,2 Hz, 1H), 1,16 (s, 3H), 0,81 (d, J = 6,2 Hz, 3H).

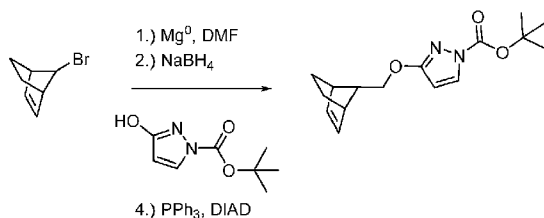
N-((1,3-Dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-2-((S)-2,2-dimetil-4-(metil-d3)pirolidin-1-il-3,3-d2)-6-(3,3,3-trifluoro-2-(hidroximetil)-2-metilpropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinamidă (Compusul 4)



- 6-[3-[2-[[*terț*-Butil(difenil)silil]oximetil]-3,3,3-trifluoro-2-metil-propoxi]pirazol-1-il]-2-cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-piridin-3-carboxamidă (900 mg, 1,16 mmol), (4*S*)-3,3-dideuterio-2,2-dimetil-4-(trideuteriometil)pirolidină (sare clorhidrat) (1,8 g, 12 mmol), și carbonat de potasiu (3,2 g, 23 mmol) s-au combinat în DMSO (3 mL) și dimetoxietan (0,5 mL) și s-au încălzit la 130 °C timp de 2 zile. Masa de reacție a fost răcită la temperatura camerei și diluată cu 20 mL acid citric 1M și 40 mL acetat de etil. Stratul apos și cel organic au fost separate, și stratul apos a fost extras încă de două ori cu 50 mL acetat de etil. Organicele au fost combinate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Amestecul de reacție a fost purificat prin cromatografie pe silicagel pentru a da alcoolul liber, N-((1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-2-((*S*)-2,2-dimetil-4-(metil-d₃)pirolidin-1-il-3,3-d₂)-6-(3-(3,3,3-trifluoro-2-(hidroximetil)-2-metilpropoxi)-1H-pirazol-1-il)nicotinamidă (0,7 g, 98%) ESI-MS *m/z* calc. 618,26, găsit 619,7 (*M*+1)⁺; Timp de retenție: 5,06 minute (rulare 17 minute).
- Sinteză de N-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(norbomnan-7-ilmetoxi)pirazol-1-il]-2-[(4*S*)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (Compusul 52)**



Etape 1-3: 3-(7-biciclo[2,2,1]Hept-2-enilmetoxi)pirazol-1carboxilat de *terț*-butil



20

Etapa 1: biciclo[2,2,1]Hept-2-enă-7-carbaldehidă

- 7-Bromobiciclo[2,2,1]hept-2-enă (400 mg, 2,311 mmol) și magneziu (67 mg, 2,757 mmol) (suprafață zgâriată) s-au combinat într-un flacon în dietil eter anhidru (4 mL), și s-au încălzit la 40 °C timp de 2 ore, timp în care magneziul a fost umezit, dar nu complet consumat. Amestecul de reacție a fost apoi răcit la 0 °C, și DMF (220 μL, 2,841 mmol) s-a adăugat în picătură, conducând la formarea unui precipitat solid alb. Amestecul de reacție a fost întors până la 40 °C timp de încă 2 ore, apoi răcit la temperatura camerei și stins cu 3 mL HCl 0,1 M. După diluare cu 25 mL apă și 25 mL din straturile de dietil eter au fost separate, și stratul apos a fost extras cu încă 3x 20 mL

25

dietil eter. Organicele combinate au fost spălate cu saramură și uscate pe sulfat de sodiu, apoi concentrate parțial până la un volum sub 1 mL, apoi utilizate în etapa următoare fără izolare.

Etapa 2: 7-biciclo[2,2,1]Hept-2-enilmetanol

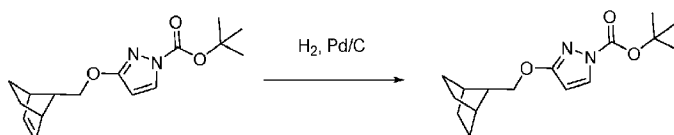
Amestecul din etapa anterioară a fost diluat cu metanol (3 mL) și răcit la 0 °C într-o baie de gheață. S-a adăugat borohidru de sodiu (262 mg, 6,925 mmol), și amestecul de reacție a fost agitat timp de 2 ore, timp în care majoritatea gheții s-a topit. Amestecul de reacție a fost stins cu 3 mL clorură de amoniu saturată, apoi diluat cu 20 mL apă și 20 mL acetat de etil. Organicele au fost separate, și stratul apos a fost extras suplimentar cu acetat de etil 4x 20 mL. Organicele combinate au fost spălate cu saramură și uscate pe sulfat de sodiu, apoi concentrate la un ulei. Amestecul brut rezultat a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară.

Etapa 3:

Materialul brut din etapa 2 a fost combinat cu PPh₃ (606 mg, 2,310 mmol), și 3-hidroxipirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (426 mg, 2,313 mmol) în THF (6 mL), apoi răcit la 0 °C, moment la care s-a adăugat în picătură DIAD (448 μL, 2,313 mmol). După 30 de minute amestecul de reacție a fost lăsat să se încălzească la temperatura camerei și agitat timp de 1 oră. Temperatura de reacție a fost apoi crescută la 50 °C timp de 1 oră, dar a părut că devine rapid mai dezordonată și a fost readusă la temperatura camerei timp de încă 16 ore. Amestecul de reacție a fost apoi diluat cu 100 mL acetat de etil, și spălat cu 50 mL NaOH apos 1M, și stratul apos a fost extras suplimentar cu 50 mL acetat de etil. Organicele combinate au fost apoi spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Materialul rezultat a fost purificat prin flash cromatografie pe silicagel pentru a da 3-(7-biciclo[2,2,1]hept-2-enilmetoxi)pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (20 mg, 2%) ESI-MS *m/z* calc. 290,16306, găsit 291,3 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,74 minute cu o impuritate semnificativă neidentificată.

Etapa 4: 3-(Norbornan-7-ilmetoxi)pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil

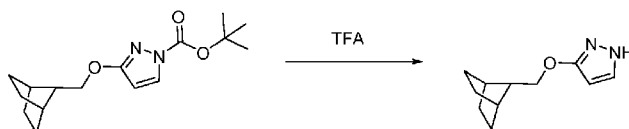
25



3-(7-biciclo[2,2,1]Hept-2-enilmetoxi)pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (20 mg, 0,04959 mmol) a fost combinat cu paladiu 10% pe carbon (20 mg, 0,01879 mmol) în etanol (500 μL) și hidrogen gazos a fost barbotat prin amestecul de reacție din balon timp de 15 minute, și masa de reacție a fost agitată timp de încă 6 ore cu balonul de hidrogen în spațiul de deasupra nivelului solventului. Amestecul de reacție a fost apoi filtrat și concentrat pentru a da 3-(norbornan-7-ilmetoxi)pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (17 mg, 84%) ESI-MS *m/z* calc. 292,17868, găsit 293,3 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,83 minute.

Etapa 5: 3-(Norbornan-7-ilmetoxi)-1H-pirazol

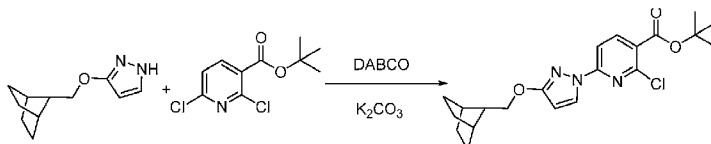
35



3-(Norbornan-7-ilmetoxi)pirazol-1-carboxilat de *tert*-butil (17 mg, 0,0412 mmol) a fost dizolvat în diclorometan (1 mL) cu TFA (aproximativ 84,81 mg, 57,30 μL, 0,7438 mmol), și a fost agitat timp de 1 oră la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost apoi concentrat sub presiune redusă. Hexanii au fost adăugați și amestecul de reacție a fost reconcentrat pentru a da 3-(norbornan-7-ilmetoxi)-1H-pirazol (11 mg, 83%) ESI-MS *m/z* calc. 192,12627, găsit 193,1 (M+1)⁺; Timp de retenție: 0,56 minute

Etapa 6: 2-Cloro-6-[3-(norbornan-7-ilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilat de *tert*-butil

45

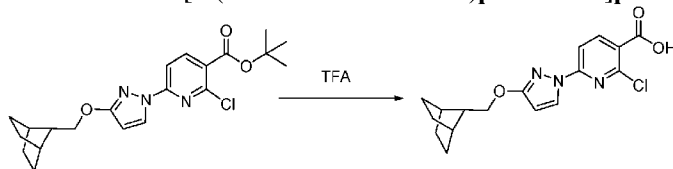


Un flacon de reacție a fost încărcat sub azot cu 2,6-dicloropiridin-3-carboxilat de *tert*-butil (14 mg, 0,05643 mmol), 3-(norbornan-7-ilmetoxi)-1H-pirazol (11 mg, 0,04119 mmol), și K₂CO₃ (10 mg, 0,07236 mmol) (proaspăt mărunțit într-un mojar) și DMF anhidră (200 μL). S-a adăugat DABCO (1 mg, 0,008915 mmol) și amestecul a fost agitat la temperatura camerei sub azot timp de 8 ore. Amestecul de reacție a fost diluat cu acetat de etil (10 mL) și apă (10 mL) și cele

50

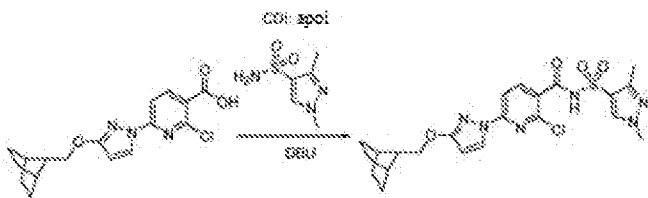
două faze au fost separate. Faza apoasă a fost extrasă suplimentar cu acetat de etil (2 x 10 mL). Extractele combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și solventul îndepărtat sub presiune redusă. Materialul a fost supus la flash cromatografie pe silicagel utilizând un gradient de acetat de etil (0 până la 20%) în hexani. Frațiunile pure au fost combinate și solventul a fost îndepărtat sub presiune redusă pentru a furniza 2-cloro-6-[3-(norbornan-7-ilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic de *tert*-butil (9 mg, 39%) ESI-MS *m/z* calc. 403,16626, găsit 404,3 (M+1)+; Timp de retenție: 0,95 minute.

Etapa 7: Acid 2-cloro-6-[3-(norbornan-7-ilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic



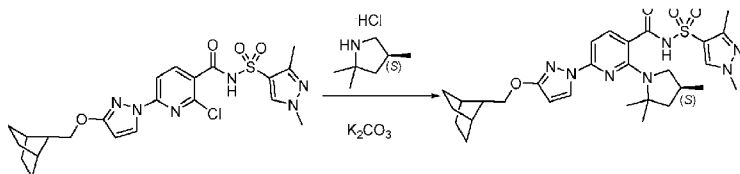
2-Cloro-6-[3-(norbornan-7-ilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic de *tert*-butil (9 mg, 0,02228 mmol) și TFA (30 μ L, 0,3894 mmol) s-au combinat în diclorometan (90,00 μ L) și s-au încălzit la 40 °C timp de 2 ore. Solventul a fost evaporat sub presiune redusă, apoi s-au adăugat hexani și amestecul s-a evaporat din nou pentru a da un solid alb, acid 2-cloro-6-[3-(norbornan-7-ilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (7 mg, 90%) ESI-MS *m/z* calc. 347,10367, găsit 348,2 (M+1)+; Timp de retenție: 0,76 minute.

Etapa 8: 2-Cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(norbornan-7-ilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă



Acid 2-cloro-6-[3-(norbornan-7-ilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxilic (7 mg, 0,02013 mmol) și CDI (5 mg, 0,03084 mmol) s-au combinat în THF (100 μ L) și s-au agitat la temperatura camerei timp de 2 ore. S-a adăugat 1,3-dimetilpirazol-4-sulfonamidă (54,233 mg, 0,3095 mmol) urmată de DBU (8 μ L, 0,05350 mmol) și masa de reacție a fost agitată timp de încă 16 h la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost diluat cu 10 mL acid citric 1 M, și extras 3x 10 mL acetat de etil. Organicele combinate au fost spălate cu apă, saramură, uscate pe sulfat de sodiu, și concentrate pentru a da un solid alb, care a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară. 2-Cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(norbornan-7-ilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (10 mg, 98%) ESI-MS *m/z* calc. 504,13464, găsit 505,3 (M+1)+; Timp de retenție: 0,74 minute.

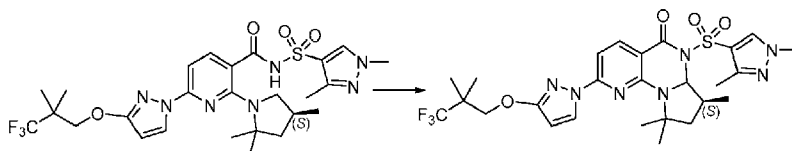
Etapa 9: N-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(norbornan-7-ilmetoxi)pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă



2-Cloro-N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(norbornan-7-ilmetoxi)pirazol-1-il]piridin-3-carboxamidă (10 mg, 0,01980 mmol), (4S)-2,2,4-trimetilpirolidină (Sare clorhidrat) (15 mg, 0,1002 mmol), și carbonat de potasiu (27 mg, 0,1954 mmol) au fost combinate în DMSO (150 μ L) și încălzit la 130 °C timp de 16 h. Masa de reacție a fost răcită la temperatura camerei și diluată cu 15 mL acetat de etil și 15 mL acid citric 1M. Stratul apos și cel organic au fost separate, și stratul apos a fost extras încă de două ori cu 15 mL acetat de etil. Organicele au fost combinate, spălate cu saramură, uscate pe sulfat de sodiu și concentrate. Produsul brut rezultat a fost purificat prin HPLC Prep (1-99ACN) cu HCl modificador, rulare 30 minute. Frațiunile conținând produs au fost concentrate și uscate sub vid pentru a da N-(1,3-dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(norbornan-7-ilmetoxi)pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (2 mg, 17%) ESI-MS *m/z* calc. 581,27844, găsit 582,5 (M+1)+; Timp de retenție: 2,32 minute.

Sinteză de (7S)-6-((1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)sulfonil)-7,9,9-trimetil-2-(3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropoxi)-1H-pirazol-1-il)-6a,7,8,9-tetrahidropirido[3,2-e]pirolo[1,2-a]pirimidin-5(6H)-onă (Compusul 36)

5



10 N-(1,3-Dimetilpirazol-4-il)sulfonil-6-[3-(3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propoxi)pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirolidin-1-il]piridin-3-carboxamidă (50,5 mg, 0,08450 mmol), NaOAc (13,86 mg, 0,1690 mmol), apă (15,22 mg, 15,22 μ L, 0,8450 mmol), și [Ir{dF(CF₃)ppy}2(dtbpy)]PF₆ (94,80 mg, 0,08450 mmol) s-au combinat în DMA (880,7 μ L) și amestecul de reacție a fost plasat apoi la o sursă de lumină 23 WCFL timp de 1,5 h. Masa de reacție a fost injectată direct pe o coloană cu silicagel fără altă prelucrare. Amestecul brut a fost purificat prin cromatografie pe silicagel eluand cu acetat de etil 0-100% în hexani. Produsul a fost contaminat cu DMA așa încât produsul a fost re-purificat prin cromatografie pe silicagel eluand cu acetat de etil 0-100% în hexani pentru a da C₂₆H₃₂F₃N₇O₄S (10,4 mg, 21%) ESI-MS m/z calc. 595,2189, găsit 596,4 (M+1)⁺; Timp de retenție: 2,4 minute.

Preparări de dispersii uscate prin pulverizare (SDD) din Compusul 1

20 O dispersie uscată prin pulverizare de Compus 1 a fost preparată utilizând Buchi Mini Spray Dryer B290. HPMCAS-HG (6,0 grame) a fost dizolvată în 200 mL de MeOH (metanol)/DCM (diclorometan) (1/3), s-a adăugat Compusul 1 (15,0 grame) și s-a agitat timp de 30 minute formand o soluție limpede. Soluția rezultată a fost uscată prin pulverizare în următoarele condiții, conducând la o dispersie uscată prin pulverizare de Compus 50 % în greutate /HPMCAS-HG 50 % în greutate (Randament: 70%, Încărcare cu solid: 13%).

	Condiții
Temperatură de intrare (°C)	80
Temperatură de ieșire (°C)	39
Presiune de azot (PSI)	95
Aspirator (%)	100
Pompă (%)	25
Rotamtru (mm)	60
Presiune filtru (mBar)	-50
Temperatură condensator (°C)	-10

25 SDD suplimentare de Compus 1 au fost preparate după cum urmează: 400mg de Compus 1 s-au adăugat la 100mg din unul dintre următorii polimeri: HPMC E15, HPC, HPMCAS-HF, și PVP VA64. Fiecare dintre cele patru amestecuri rezultate a fost dizolvate în 40 mL de *t*-butanol prin agitare peste noapte și soluțiile au fost apoi congelate rapid într-o baie de acetone-gheață uscată. Probele congelate au fost liofilizate (vid 0,01 mbar, colector -55°C) timp de 72 ore. Probele liofilizate au fost determinate ca fiind amorfe prin XRPD.

Teste pentru detectarea și măsurarea proprietăților compușilor de modulator al F508del-CFTR

Metode optice ale potențialului de membrană pentru analizarea proprietăților modulatorilor F508del-CFTR

35 Testul utilizează coloranți fluorescenți care detectează tensiunea pentru a măsura modificări în potențialul membranei utilizând un cititor de placă fluorescentă (de exemplu, FLIPR III, Molecular Devices, Inc.) ca citire pentru creșterea funcțională a F508del în celule NIH 3T3. Forța motrice pentru răspuns este crearea unui gradient de ioni clorură coroborat cu activarea canalului și concomitent cu tratamentul cu compus printr-o singură etapă de adăugare a lichidului după ce celulele au fost încărcate anterior cu un colorant de detectare a tensiunii.

AI. Identificarea modulatorilor F508del-CFTR

45 Pentru a identifica modulatori ai F508del, a fost dezvoltat un format de test HTS pe bază de fluorescență. Acest test HTS utilizează coloranți fluorescenți care detectează tensiunea pentru a măsura modificări în potențialul membranei pe FLIPR III ca măsură pentru creșterea intrării (conductanței) celulelor F508del NIH 3T3. Forța motrice pentru răspuns este crearea unui gradient de ioni clorură coroborat cu activarea canalului și concomitent cu tratamentul cu compus printr-o singură etapă de adăugare a lichidului după ce celulele au fost încărcate anterior cu un colorant de

detectare a tensiunii. Datele pentru Compușii 1-65 care au fost obținute utilizând testul descris aici sunt rezumate în Tabelul 9 de mai jos. De exemplu, utilizând această metodă, Compusul 1 a avut o EC_{50} mai mică de 3 μ M și % Eficacitate de $\geq 100\%$ față de Compusul II.

Soluții

- 5 Soluție de baie #1: (în mM) NaCl 160, KCl 4,5, $CaCl_2$ 2, $MgCl_2$ 1, HEPES 10, pH 7,4 cu NaOH, Glucoză 10.

Soluție de baie fără clorură: Sărurile clorură din Soluția de baie #1 (de mai sus) sunt înlocuite cu săruri gluconat.

Cultură celulară

- 10 Fibroblaste NIH3T3 de șoarece care exprimă stabil F508del au fost utilizate pentru măsurători optice ale potențialului de membrană. Celulele au fost menținute la 37 °C în mediu Eagle modificat Dulbecco suplimentat cu glutamină 2 mM, ser fetal bovin 10 %, 1 X NEAA, β -ME, 1 X penicilină/streptomicină, și HEPES 25 mM, la 5% CO_2 și 90 % umiditate, în flacoane de cultură de 175 cm^2 . Pentru toate testele optice, celulele au fost însemănțate la 12000 celule/godeu în plăci, acoperite cu matrigel, cu 384 de godeuri și cultivate timp de 18-24 ore la 37 °C pentru testarea potențiatorului. Pentru testul de corecție, celulele au fost cultivate la 37 °C cu și fără compuși timp de 18 - 24 de ore.

Teste electrofiziologice pentru analizarea proprietăților de modulare F508del ale compușilor.

- 20 Testul cu Cameră Ussing

- Experimentele în cameră Ussing au fost efectuate pe celule epiteliale ale căilor respiratorii polarizate care exprimă F508del pentru a caracteriza suplimentar modulatorii F508del identificați în testele optice. Epiteliile căilor respiratorii non-CF și CF au fost izolate din țesutul bronșic, cultivate așa cum s-a descris anterior (Galletta, LJV, Lantero, S., Gazzolo, A., Sacco, O., Romano, L., Rossi, GA și Zegarra-Moran, O. (1998) In Vitro Cell. Dev. Biol. 34, 478-481) și placate pe filtre Costar® Snapwell™ care au fost pre-acoperite cu mediu NIH3T3-condiționat. După patru zile mediul apical a fost îndepărtat și celulele au fost crescute la o interfață aer-lichid timp de >14 zile înainte de utilizare. Aceasta a condus la un monostat de celule columnare complet diferențiate care au fost ciliate, caracteristici care sunt specifice epitelului căilor respiratorii. HBE non-CF au fost izolate de la nefumători care nu au nici o boală pulmonară cunoscută. HBE CF au fost izolate de la pacienți homozigot pentru F508del sau heterozigot compus pentru F508del cu o boală diferită care determină mutație pe cealaltă alelă.

- Inserturi de cultură celulară HBE crescute pe Costar® Snapwell™ au fost montate într-o cameră Ussing (Physiologic Instrumentes, Inc., San Diego, CA), și rezistența transepitelială și curentul de scurt-circuit în prezența unui gradient de Cl^- bazolateral la apical, (I_{sc}) au fost măsurate utilizând un sistem voltage-clamp (Department of Bioengineering, University of Iowa, IA). Pe scurt, HBE au fost examinate sub condiții de înregistrare voltage-clamp ($V_{hold} = 0$ mV) la 37 °C. Soluția bazolaterală a conținut (în mM) NaCl 145, K_2HPO_4 0,83, KH_2PO_4 3,3, $MgCl_2$ 1,2, $CaCl_2$ 1,2, Glucoză 10, HEPES 10 (pH ajustat la 7,35 cu NaOH) și soluția apicală a conținut (în mM) Gluconat de Na 145, $MgCl_2$ 1,2, $CaCl_2$ 1,2, glucoză 10, HEPES 10 (pH ajustat la 7,35 cu NaOH).

A2. Identificarea modulatorilor F508del-CFTR

- Protocolul tipic a utilizat un gradient de concentrație a Cl^- în membrană, bazolateral până la apical. Pentru a configura acest gradient, s-a folosit Ringer's normală pe membrana bazolaterală, în timp ce apical NaCl a fost înlocuită cu gluconat de sodiu echimolar (titrat la pH 7,4 cu NaOH) pentru a da un gradient de concentrație mare de Cl^- prin epiteliu. Modulatorii au fost adăugați fie pe partea bazolaterală cu 18 - 24 ore înainte de testare fie pe partea apicală în timpul testului. S-a adăugat forskolină (10 μ M) pe partea apicală în timpul testării pentru a stimula transportul Cl^- mediat de CFTR.

- 50 Înregistrări patch-clamp

- Curentul Cl^- total în celule F508del-NIH3T3 a fost monitorizat utilizând configurația de înregistrare a patch perforat așa cum s-a descris anterior (Rae, J., Cooper, K., Gates, P., & Watsky, M. (1991) J. Neurosci. Methods 37, 15-26). Înregistrările voltage-clamp au fost efectuate la 22 °C utilizând un amplificator patch-clamp Axopatch 200B (Axon Instruments Inc., Foster City, CA). Soluția pipetei a conținut (în mM) N-metil-D-glucamină 150 (NMDG)-Cl, $MgCl_2$ 2, $CaCl_2$ 2, EGTA 10, HEPES 10, și amfotericină-B 240 μ g/mL (pH ajustat la 7,35 cu HCl). Mediul extracelular a conținut (în mM) NMDG-Cl 150, $MgCl_2$ 2, $CaCl_2$ 2, HEPES 10 (pH ajustat la 7,35 cu HCl). Generarea impulsurilor, achiziția de date și analiza au fost efectuate folosind un computer echipat cu o interfață Digidata 1320 A/D împreună cu Clampex 8 (Axon Instruments Inc.). Pentru a activa F508del, în baie s-au adăugat forskolină 10 μ M și genisteină 20 μ M și relația curent-tensiune a fost monitorizată la fiecare 30 sec.

A3. Identificarea modulatorilor F508del-CFTR

Capacitatea modulatorilor F508del-CFTR de a crește curentul F508del Cl^- ($I_{F508del}$) macroscopic în celulele NIH3T3 care exprimă stabil F508del a fost de asemenea investigată utilizând tehnici de înregistrare pe patch-uri perforate. Modulatorii identificați din testele optice au evocat o creștere dependentă de doză a I_{F508} , cu o potență și eficacitate similare cu cele observate în testele optice.

Cultură celulară

Fibroblastele de șoarece NIH3T3 care exprimă stabil F508del sunt utilizate pentru înregistrări pe celulă întreagă. Celulele sunt menținute la 37 °C în 5% CO_2 și 90 % umiditate în mediu Eagle modificat Dulbecco suplimentat cu glutamină 2 mM, ser fetal bovin 10 %, 1 X NEAA, β -ME, 1 X penicilină/streptomicină, și HEPES 25 mM, în flacoane de cultură de 175 cm². Pentru înregistrări pe celulă întreagă, 2500 - 5000 celule au fost însămânțate pe lamele de sticlă acoperite cu poli-L-lizină și cultivate timp de 18 - 24 ore în prezența sau absența modulatorilor 37 °C.

Înregistrări de canal unic

Activitatea de intrare a F508del-CFTR exprimată în celule NIH3T3 după tratamentul cu modulator a fost observată utilizând înregistrări pe patch de membrană excizată în interior așa cum s-a descris anterior (Dalemans, W., Barbry, P., Champigny, G., Jallat, S., Dott, K., Dreyer, D., Cristal, R.G., Pavirani, A., Lecocq, J-P., Lazdunski, M. (1991) Nature 354, 526 - 528) utilizând un amplificator patch-clamp Axopatch 200B (Axon Instruments Inc.). Conținutul pipetei (în mM): NMDG 150, acid aspartic 150, $CaCl_2$ 5, $MgCl_2$ 2, și HEPES 10 (pH ajustat la 7,35 cu bază Tris). Conținutul băii (în mM): NMDG-Cl 150, $MgCl_2$ 2, EGTA 5, TES 10, și bază Tris 14 (pH ajustat la 7,35 cu HCl). După excizie, atât greutatea cât și F508del au fost activate prin adăugare de Mg-ATP 1 mM, subunitate catalitică de protein kinază dependentă de AMPc 75 nM (PKA; Promega Corp. Madison, WI), și NaF 10 mM, pentru a inhiba protein fosfatazele, care previne deteriorarea curentului. Potențialul pipetei a fost menținut la 80 mV. Activitatea canalului a fost analizată din patch-uri de membrană conținând ≤ 2 canale active. Numărul maxim de deschideri simultane a determinat numărul de canale active în cursul unui experiment. Pentru a determina amplitudinea curentului unui singur canal, datele de activitate F508del înregistrate în 120 sec au fost filtrate „off-line” la 100 Hz și apoi utilizate pentru a construi histograme de amplitudine în toate punctele care au fost fitate cu funcții multigaussiene folosind Bio-Patch Analysis software (Bio-Logic Comp. France). Curentul microscopic total și probabilitatea de deschidere (P_o) s-au determinat în 120 sec de activitate a canalului. P_o a fost determinat utilizând software Bio-Patch sau din relația $P_o = I/i(N)$, unde I = curent mediu, i = amplitudinea curentului pentru un singur canal, și N = număr de canale active în patch.

Cultură celulară

Fibroblastele de șoarece NIH3T3 care exprimă în mod stabil F508del sunt utilizate pentru înregistrări patch-clamp pe membrane excizate. Celulele sunt menținute la 37 °C în 5% CO_2 și 90 % umiditate în mediu Eagle modificat Dulbecco suplimentat cu glutamină 2 mM, ser fetal bovin 10 %, 1 X NEAA, β -ME, 1 X penicilină/streptomicină, și HEPES 25 mM, în flacoane de cultură de 175 cm². Pentru înregistrări pe un singur canal, 2500 - 5000 celule au fost însămânțate pe lamele de sticlă acoperite cu poli-L-lizină și cultivate timp de 18 - 24 ore în prezența sau absența modulatorilor la 37 °C.

B. Testul de determinare cromatografică a albuminei din ser uman (HSA)

Determinarea cromatografică a valorilor albuminei serice umane (HSA) a fost efectuată pe un sistem UPLC-MS utilizând o coloană ChiralPak® HSA (p/n: 58469AST) de la Sigma Aldrich. Faza mobilă A a constatat din tampon acetat de amoniu 50 mM în apă ajustat la pH=7,4, și faza mobilă B a fost 2-propanol. Compartimentul coloanei a fost menținut la temperatura constantă de 30 ° C. Determinarea timpului de retenție pe coloana HSA a fost efectuat prin injectarea a 3 mL de compus 0,5 mM (în DMSO) utilizând un gradient liniar de la 0% - 30% B în 2,5 minute, urmat de o menținere la 30 % B timp de 2 minute, și etapa de echilibrare finală de la 30% - 0% B în 1,5 minute, pentru un timp de rulare total de 6 minute. Debitul a fost menținut constant pe tot gradientul și setat la 1,8 mL/min. Timpul de retenție a compusului pe coloana HSA a fost convertit în valori % HSA conform unui protocol publicat anterior (Valko, et. al, 2003) coreland timpii de retenție ai coloanei cu valorile standard de legare a proteinelor plasmatice (PPB) obținute din experimentele de dializă. Datele HSA pentru anumiți compuși sunt rezumate mai jos, în Tabelul 9 de mai jos.

Valko, K., Nunhuck, S., Bevan, C., Abraham, M. H., Reynolds, D. P. Fast Gradient HPLC Method to Determine Compounds Binding to Human Serum Albumin. Relationships with Octanol/Water and Immobilized Artificial Membrane Lipophilicity. J. of Pharm. Sci. 2003, 92, 2236-2248.

C. Protocol experimental pentru studii PK IV și PO pe șobolan

Compusul testat a fost administrat șobolanilor Sprague-Dawley masculi sub formă de doză intravenoasă unică nominală de 3,0 mg/kg ca soluție în NMP 10%, solutol 10%, EtOH 15%, PEG400 35% și D5W 30%. Compusul testat a fost de asemenea administrat șobolanilor Sprague-Dawley masculi sub formă de doză orală unică nominală de 3 mg/kg ca soluție în NMP 5%, PEG400 30%, TPGS 10%, PVP-K30 5% la un volum al dozei de 5 mL/kg. Analizele plasmei și preparările dozelor au fost efectuate utilizând LC/MS/MS.

Profilele de concentrație plasmatică-timp ale compusului testat în șobolani Sprague-Dawley la timpi de eșantionare planificați (nominali) au fost analizate prin metode farmacocinetice necompartimentale utilizând funcția PK în cadrul software-ului Watson LIMS, Versiunea 7.4.2 (Thermo Scientific Inc, Waltham, MA). Valorile AUC au fost calculate utilizând regula trapezoidală liniară.

D. Protocol experimental pentru testul PXR

Predilecția de inducere a CYP3A4 mediată PXR este evaluată utilizând linia celulară DPX-2 *in vitro*. Această linie celulară, care a fost licențiată de la Puracyp Inc., a fost derivată din celule HepG2 și a fost transfectată stabil cu gene care codifică PXR uman, precum și un reporter de luciferază modificat legat de regiunea promotor de CYP3A4 și potențatori distali și proximali inrudiți.

Analiza este efectuată în format de 384 de godeuri și fiecare articol de testat este administrat în 11 doze cuprinse între 0,1 și 60 uM. În ziua 1, celulele DPX-2 care anterior au fost extinse în interior și crioconservate sunt decongelate și însămânțate în plăci de cultură tisulară. A doua zi, mediul este schimbat și celulele sunt cultivate în medii care conțin articol de testat, control vehicul sau compus control pozitiv, inductorul CYP3A4 validat clinic rifampicină. Celulele sunt cultivate în prezența articolului testat timp de 48 ore și apoi viabilitatea celulară este evaluată utilizând testul pe bază de fluorescență (Cell Titer-Fluor, Promega) cu un cititor de placă EnVision (PerkinElmer). Ulterior, transactivarea CYP3A4, care este proporțională cu activitatea luciferazei, este măsurată prin citirea luminescenței utilizând sistemul de reactiv Promega One-Glo utilizând același cititor de placă.

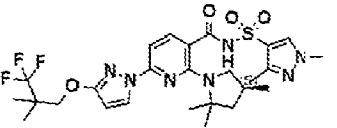
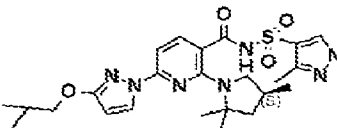
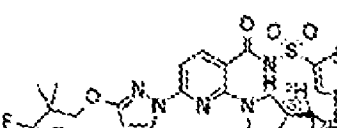
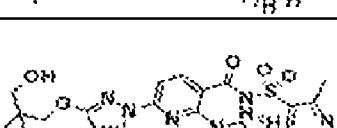
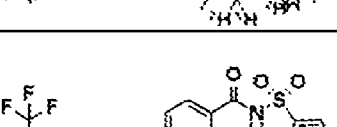
Procesarea datelor în cadrul pachetului software Genedata permite raportarea inducerii plierii maxime în comparație cu controlul cu vehicul, valorii EC₅₀ pentru inductorii CYP3A4 și o curbă de răspuns la doză în 11 puncte. Godeurile cu viabilitate celulară mai mică de 70% nu sunt utilizate pentru analiză iar plăcile unde răspunsul la controlul pozitiv rifampicină cade în exteriorul intervalului așteptat, în ceea ce privește potența sau inducerea plierii maxime, nu sunt raportate.

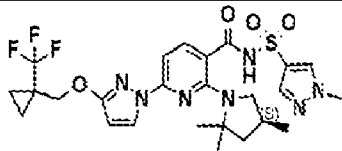
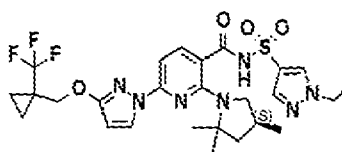
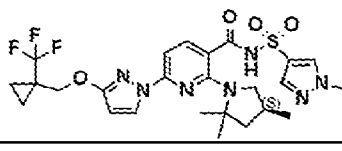
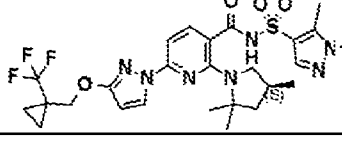
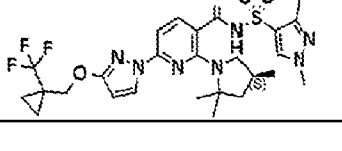
E. Date CFTR ale compușilor

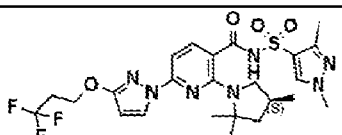
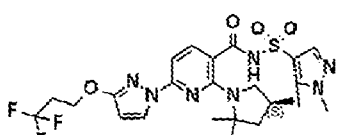
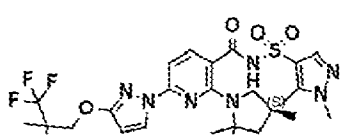
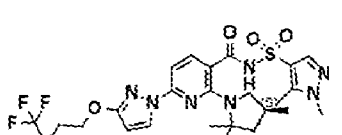
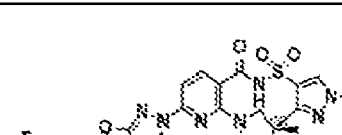
Compușii cu Formula (I) sunt utili ca modulatori ai activității CFTR. Tabelul 9 de mai jos ilustrează EC₅₀ a compușilor din Tabelul 9 utilizând procedeele descrise mai sus (testul descris mai sus în A1). Tabelul 9 de mai jos rezumă de asemenea activitatea CFTR (CFTR dF508 EC50), inducerea PXR Max, clearance IV la șobolan, AUC PO la șobolan, și date PO la șobolan pentru unii dintre compușii descriși mai sus.

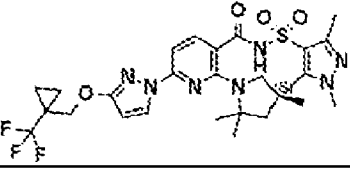
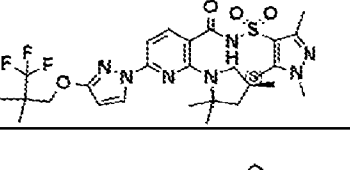
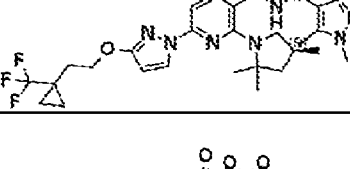
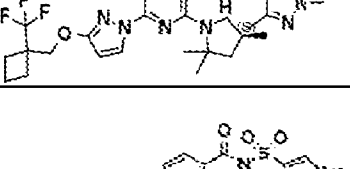
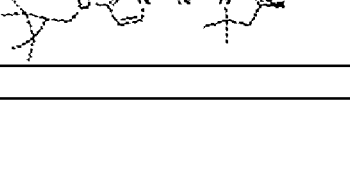
MD/EP 3551622 T2 2021.03.31

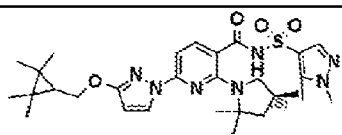
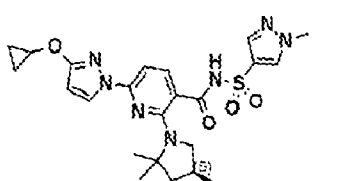
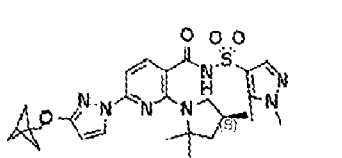
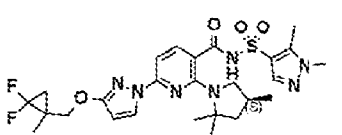
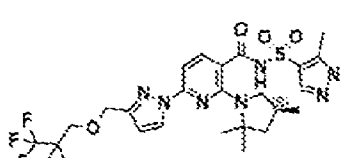
157

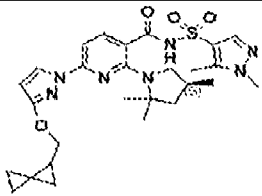
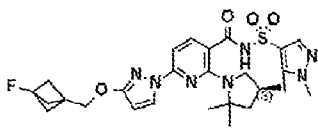
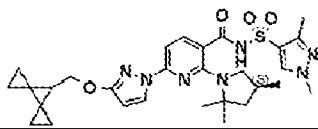
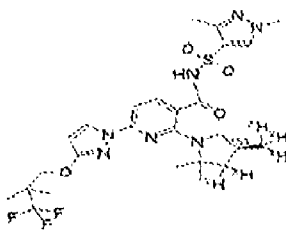
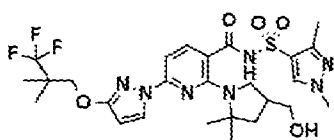
Nr. Comp	Moleculă	CFTRdF508 Cor3T3 FLIPR 384 CFTRdF508 MP 3T3 770 EC50 (uM)	Inducere CYP3A4 - PXR uman Activitate internă PXR Max % (%)	MDCK-de sălbatic- Permeabilitate 96 godeuri +0,1%BSA Papp compus (A-B) (10E-6 cm/s)	tip	Clearance hepatocite șobolan - CL-hepatocite șobolan pct_nemodificare d (%)	PLASMA ȘOBOLAN - IV Brut -bolus brut CL_drg (mL/min/k g)	PLASMA ȘOBOLAN - PO Brut %F_drg (%)	PLASMA ȘOBOLAN - PO Brut AUC(0- inf)_drg (ug*h/mL)
1		0,07	2	4,5		66	1,6	83	23,5
2									
3									
4									
5		1,3	0	0,3		33			
6		0,3	9	2,1		53			

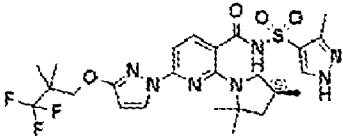
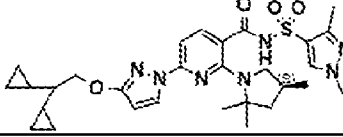
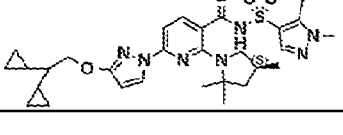
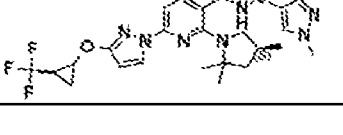
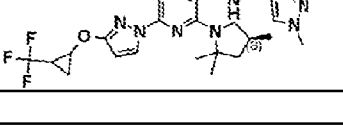
Nr. Comp	Moleculă	CFTRdF508 Cor3T3 FLIPR 384 CFTRdF508 MP 3T3 770 EC50 (uM)	Inducere CYP3A4 - PXR uman Activitate internă PXR Max % (%)	MDCK-de sălbatic- Permeabilitate 96 godeuri +0,1%BSA Papp compus (A-B) (10E-6 cm/s)	tip	Clearance hepatocite șobolan – CL-hepatocite șobolan pct_nemodificare d (%)	PL ȘO IV bru (m)
							
7		0,65	4	3,1			
8		0,4	10	3,2		62	
9		0,42	7	6,1		30	1,7
10		0,22	4	7,1			
11		0,41	18				

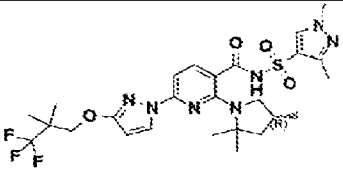
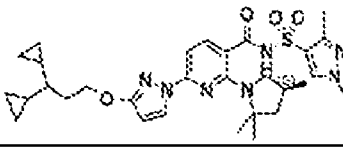
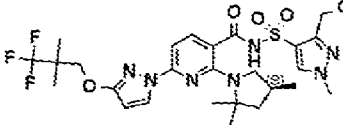
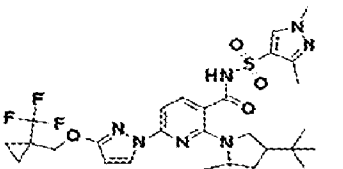
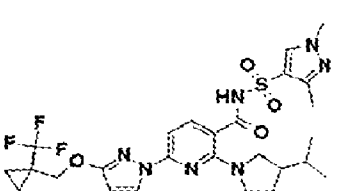
Nr. Comp	Moleculă	CFTRdF508 Cor3T3 FLIPR 384 CFTRdF508 MP 3T3 770 EC50 (uM)	Inducere CYP3A4 - PXR uman Activitate internă PXR Max % (%)	MDCK-de sălbatic- Permeabilitate godeuri +0,1%BSA Papp compus (A-B) (10E-6 cm/s)	tip Clearance hepatocite șobolan – CL-hepatocite șobolan pct_nemodificare d (%)	PL ȘO IV bru (m
						
12		0,86	33,5			
13		0,13	4	11,7	117	3
14		0,28	2	2,8	50	3,9
15		0,13	3	2,7	97	2,5
16		0,4	13	3,9	10	

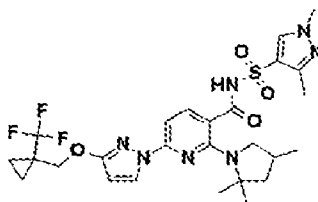
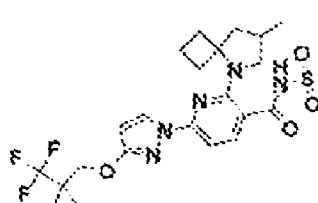
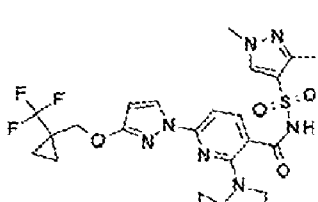
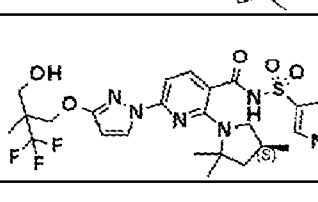
Nr. Comp	Moleculă	CFTRdF508 Cor3T3 FLIPR 384 CFTRdF508 MP 3T3 770 EC50 (uM)	Inducere CYP3A4 - PXR uman Activitate internă PXR Max % (%)	MDCK-de sălbatic- Permeabilitate godeuri +0,1%BSA Papp compus (A-B) (10E-6 cm/s)	tip Clearance hepatocite șobolan - CL-hepatocite șobolan pct_nemodificare d (%)	PL ȘO IV bru (m
						
17		0,17	3	3,8	19	
18		0,17	5	8	0	
19		0,09	1	8,8		
20		0,17	4	1,4	13	4,9
21		0,52	1	3	0	6,7

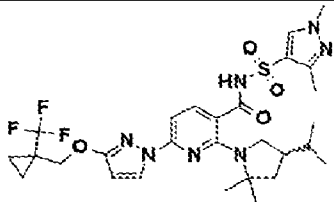
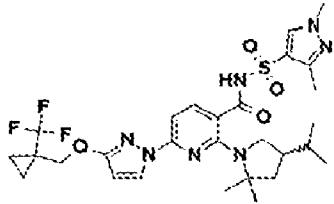
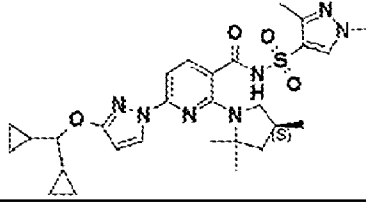
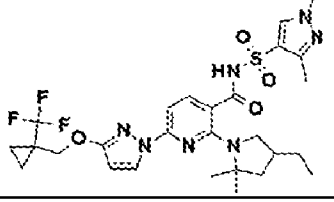
Nr. Comp	Moleculă	CFTRdF508 Cor3T3 FLIPR 384 CFTRdF508 MP 3T3 770 EC50 (uM)	Inducere CYP3A4 - PXR uman Activitate internă PXR Max % (%)	MDCK-de sălbatic- Permeabilitate 96 godeuri +0,1%BSA Papp compus (A-B) (10E-6 cm/s)	tip	Clearance hepatocite șobolan – CL-hepatocite șobolan pct_nemodificare d (%)	PL ȘO IV bru (m)
							
22		2,1					
23		0,54	4				
24		0,71	6				
25		0,44	6	1,3			
26		1	6	2,3			

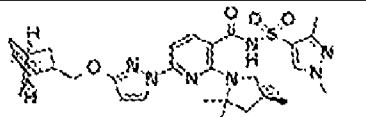
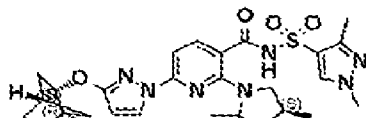
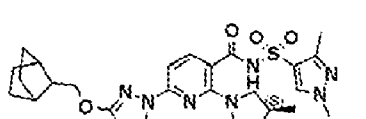
Nr. Comp	Moleculă	CFTRdF508 Cor3T3 FLIPR 384 CFTRdF508 MP 3T3 770 EC50 (uM)	Inducere CYP3A4 - PXR uman Activitate internă PXR Max % (%)	MDCK-de sălbatic- Permeabilitate 96 godeuri +0,1%BSA Papp compus (A-B) (10E-6 cm/s)	tip	Clearance hepatocite șobolan – CL-hepatocite șobolan pct_nemodificare d (%)	PL ȘO IV bru (m)
							
27		1,4					
28		0,09	4	2,2		41	1,8
29		0,11					
30		0,95	4	0,6		39	

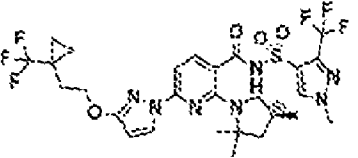
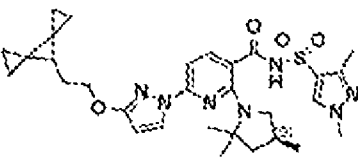
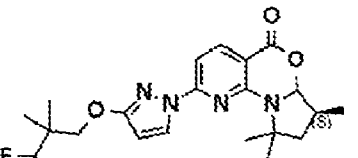
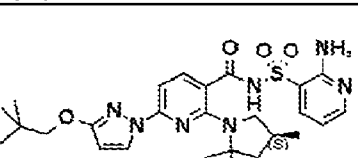
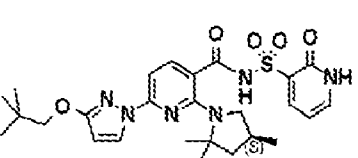
Nr. Comp	Moleculă	CFTRdF508 Cor3T3 FLIPR 384 CFTRdF508 MP 3T3 770 EC50 (uM)	Inducere CYP3A4 - PXR uman Activitate internă PXR Max % (%)	MDCK-de sălbatic- Permeabilitate 96 godeuri +0,1%BSA Papp compus (A-B) (10E-6 cm/s)	tip	Clearance hepatocite șobolan – CL-hepatocite șobolan pct_nemodificare d (%)	PL ȘO IV bru (m)
31		0,41	1	1,1		30	
32		0,2	5	3,8			
33		0,37	5				
34		0,61	6	7,5		39	
35		1,4	21	5,5		54	
36							
37		0,29	7	5,1			

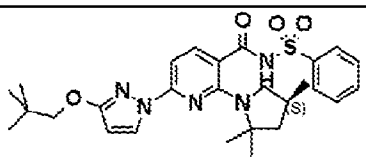
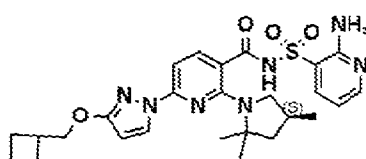
Nr. Comp	Moleculă	CFTRdF508 Cor3T3 FLIPR 384 CFTRdF508 MP 3T3 770 EC50 (uM)	Inducere CYP3A4 - PXR uman Activitate internă PXR Max % (%)	MDCK-de sălbatic- Permeabilitate godeuri +0,1%BSA Papp compus (A-B) (10E-6 cm/s)	tip Clearance hepatocite șobolan - CL-hepatocite șobolan pct_nemodificare d (%)	PL ȘO IV bru (m
						
38		0,11	2	1	56	
39		0,46	1		39	
40		0,08	13			
41		0,12	4			

Nr. Comp	Moleculă	CFTRdF508 Cor3T3 FLIPR 384 CFTRdF508 MP 3T3 770 EC50 (uM)	Inducere CYP3A4 - PXR uman Activitate internă PXR Max % (%)	MDCK-de sălbatic- Permeabilitate 96 godeuri +0,1%BSA Papp compus (A-B) (10E-6 cm/s)	tip	Clearance hepatocite șobolan – CL-hepatocite șobolan pct_nemodificare d (%)	PL ȘO IV bru (m
42		0,61	16				
43		0,22	4				
44		0,39					
45		0,56	9	1,2		49	
46		0,39					

Nr. Comp	Moleculă	CFTRdF508 Cor3T3 FLIPR 384 CFTRdF508 MP 3T3 770 EC50 (uM)	Inducere CYP3A4 - PXR uman Activitate internă PXR Max % (%)	MDCK-de tip sălbatic- Permeabilitate godeuri +0,1%BSA Papp compus (A-B) (10E-6 cm/s)	Clearance hepatocite șobolan - CL-hepatocite șobolan pct_nemodificare d (%)	PL ȘO IV bru (m)
						
47		0,06				
48		1	8	4,6		
49		0,19				
50		0,08	4	1,3	20	

Nr. Comp	Moleculă	CFTRdF508 Cor3T3 FLIPR 384 CFTRdF508 MP 3T3 770 EC50 (uM)	Inducere CYP3A4 - PXR uman Activitate internă PXR Max % (%)	MDCK-de tip sălbatic- Permeabilitate godeuri +0,1%BSA Papp compus (A-B) (10E-6 cm/s)	Clearance hepatocite șobolan - CL-hepatocite șobolan pct_nemodificare d (%)	PL ȘO IV bru (m)
51		0,15	6	2,9	29	
52		0,17	2	2	18	
53		0,39	7			
54		0,05	5	1,1	30	
55		0,1	9			

Nr. Comp	Moleculă	CFTRdF508 Cor3T3 FLIPR 384 CFTRdF508 MP 3T3 770 EC50 (uM)	Inducere CYP3A4 - PXR uman Activitate internă PXR Max % (%)	MDCK-de sălbatic- Permeabilitate 96 godeuri +0,1%BSA Papp compus (A-B) (10E-6 cm/s)	tip Clearance hepatocite șobolan – CL-hepatocite șobolan pct_nemodificare d (%)	PL ȘO IV bru (m
						
56			11			
57		30	13		35	
A		0,06	2	2,6	13	17,
B		0,26	3	0,4	13	
C		0,12	9	1,5	6	29,

Nr. Comp	Moleculă	CFTRdF508 Cor3T3 FLIPR 384 CFTRdF508 MP 3T3 770 EC50 (uM)	Inducere CYP3A4 - PXR uman Activitate internă PXR Max % (%)	MDCK-de tip sălbatic- Permeabilitate godeuri +0,1%BSA Papp compus (A-B) (10E-6 cm/s)	Clearance hepatocite șobolan - CL-hepatocite șobolan pct_nemodificare d (%)	PL ȘO IV bru (m
						
D		0,21	10		19	

F. Metaboliți

S-a stabilit că Compusul 1 este metabolizat atât *in vitro*, cât și *in vivo*, în principal prin metabolism oxidativ. Compușii 30, 31, 36, 39, 45, și 57 sunt metaboliți ai Compusului 1.

Exemplu G: Experimente de transport a clorurii

- 5 Intr-un experiment în camera Ussing cu celule F508del/F508del-HBE, Compusul 1 a îmbunătățit transportul clorurii. Efectul Compusului 1 asupra transportului clorurii a fost aditiv la efectul Compusului II. În plus, F508del-CFTR livrat pe suprafața celulei fie prin Compusul 1 singur, fie în combinație cu Compusul II a fost potențat de Compusul III. Combinația triplă de Compus I/Compus II/Compus III a furnizat o creștere superioară a transportului clorurii în comparație cu cele 3 regimuri duble în majoritatea condițiilor de testare.

Exemplu G2: Experimente de procesare și trafic F508del-CFTR *in vitro*

- 15 Combinația dintre Compusul 1 și Compusul II a condus la o îmbunătățire mai mult decât aditivă în procesarea și traficul CFTR în comparație cu oricare corector CFTR singur, sugerând că cei doi corectori CFTR acționează prin mecanisme de acțiune diferite, care acționează sinergic pentru a crește cantitatea de F508del-CFTR livrată la suprafața celulei.

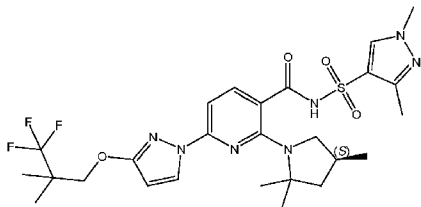
În plus, efectul mai mult decât aditiv al combinației Compusului 1 și Compusului II asupra procesării și traficului CFTR sugerează că cei doi corectori CFTR acționează prin mecanisme diferite pentru a conduce la livrarea mai multor proteine CFTR la suprafața celulei în comparație cu oricare corector CFTR singur.

(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- WO-A1-2016/057572

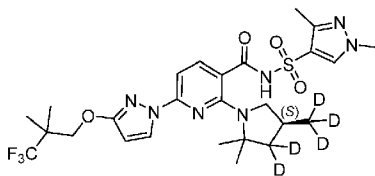
(57) Revendicări:

1. Un compus având formula următoare:



o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori.

2. Un compus în conformitate cu revendicarea 1 având formula următoare:

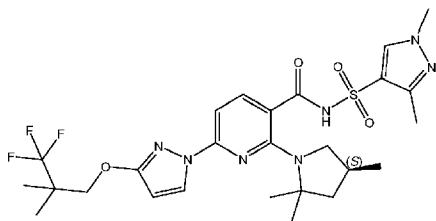


sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia.

3. O compoziție farmaceutică cuprinzând cel puțin un compus ales dintre compușii conform revendicării 1 sau revendicării 2, o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori.

4. Un compus conform revendicării 1 sau revendicării 2, sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia, sau un derivat deuterat din oricare dintre cei anteriori, sau o compoziție farmaceutică în conformitate cu revendicarea 3 pentru utilizare într-o metodă de tratare a fibrozei chistice.

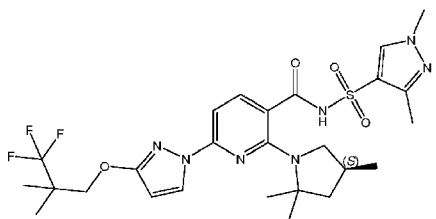
5. Un compus în conformitate cu revendicarea 1 având formula următoare:



6. O compoziție farmaceutică în conformitate cu revendicarea 3 cuprinzând compusul conform revendicării 5 și un purtător acceptabil farmaceutic.

7. Un compus sau compoziție farmaceutică pentru utilizare în conformitate cu revendicarea 4 care este un compus conform revendicării 5, sau o compoziție farmaceutică în conformitate cu revendicarea 6, pentru utilizare într-o metodă de tratare a fibrozei chistice.

8. O sare acceptabilă farmaceutic în conformitate cu revendicarea 1 a unui compus având formula următoare:



9. O compoziție farmaceutică în conformitate cu revendicarea 3 cuprinzând sarea acceptabilă farmaceutic conform revendicării 8 și un purtător acceptabil farmaceutic.

10. O sare acceptabilă farmaceutic sau o compoziție farmaceutică pentru utilizare în conformitate cu revendicarea 4 care este o sare acceptabilă farmaceutic conform revendicării 8, sau o compoziție farmaceutică în conformitate cu revendicarea 9, pentru utilizare într-o metodă de tratare a fibrozei chistice.

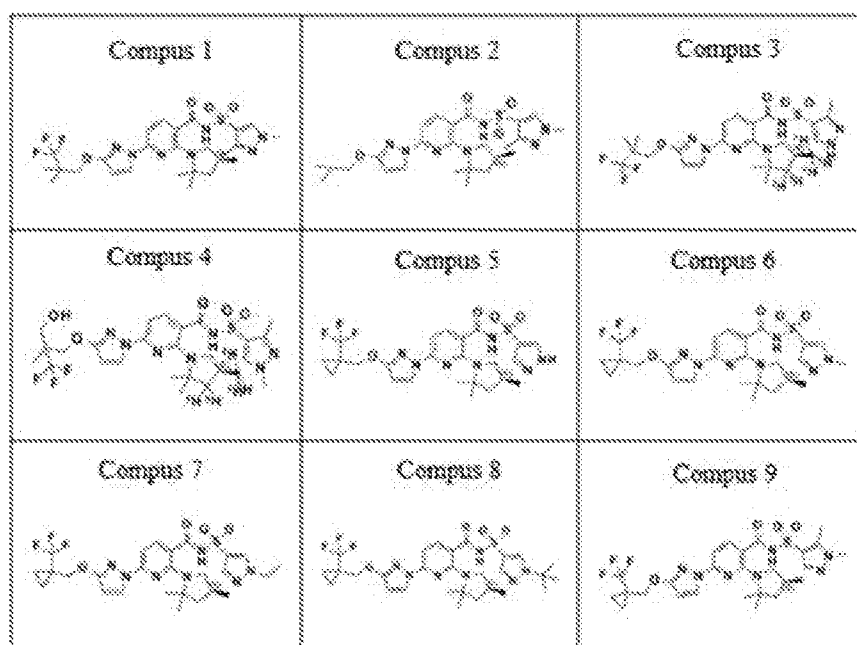


FIG. 1

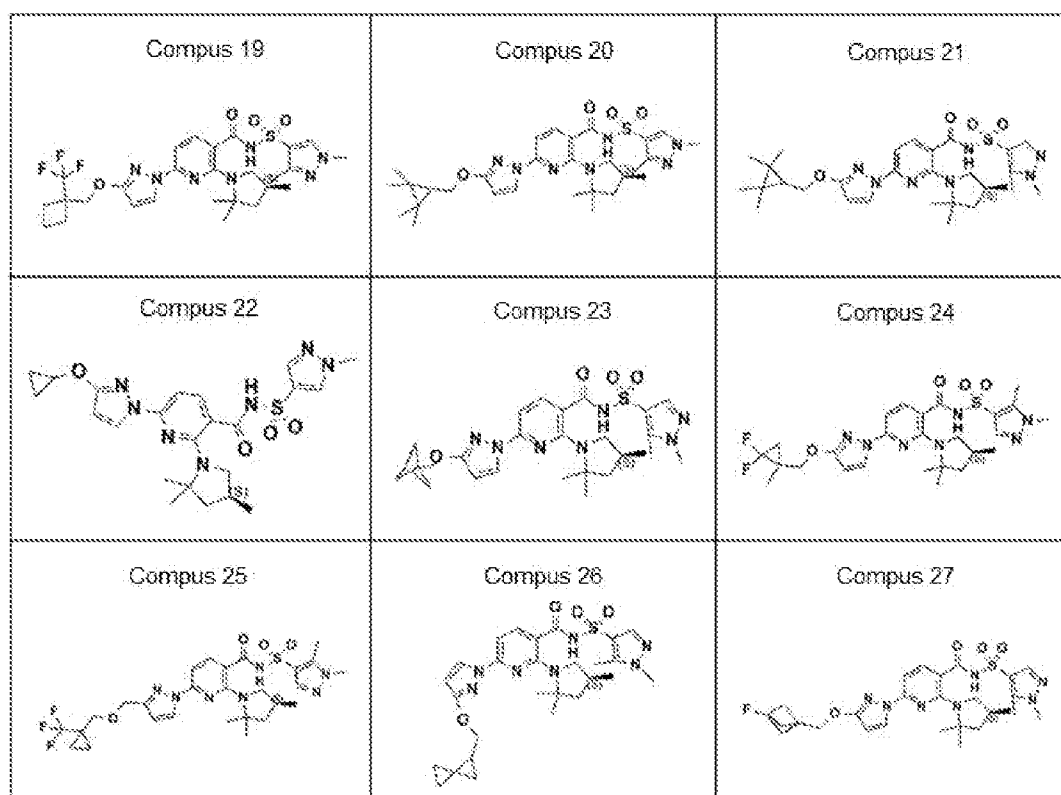


FIG. 1

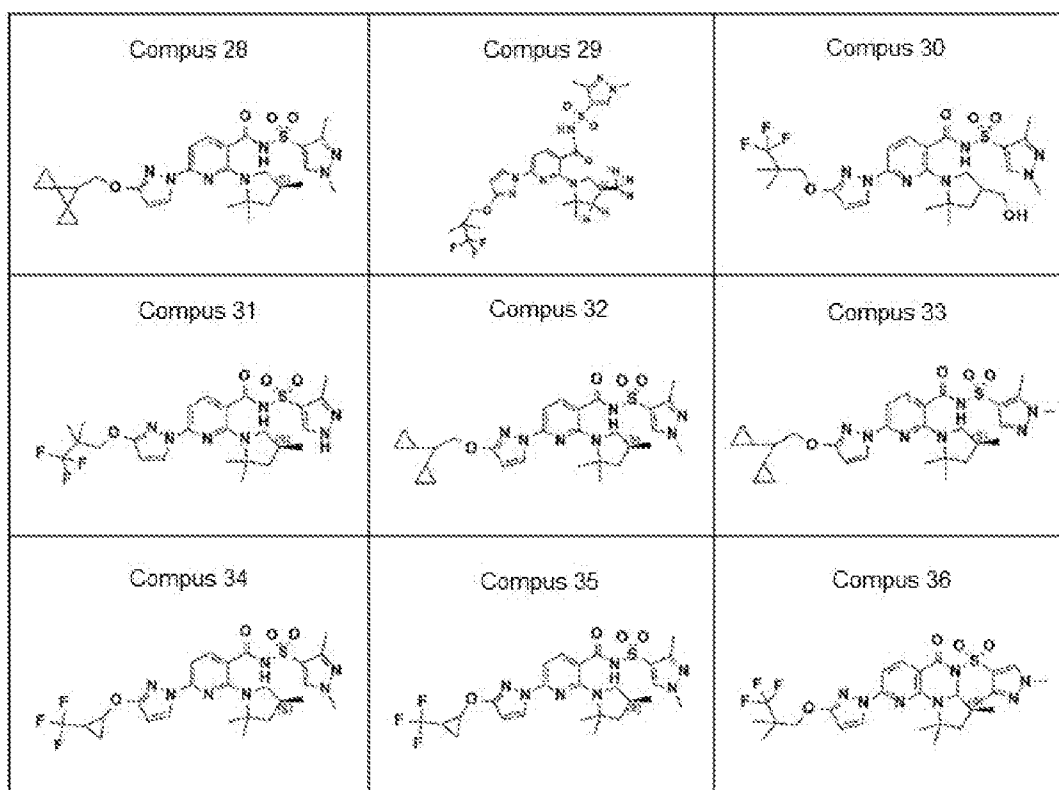


FIG. 1

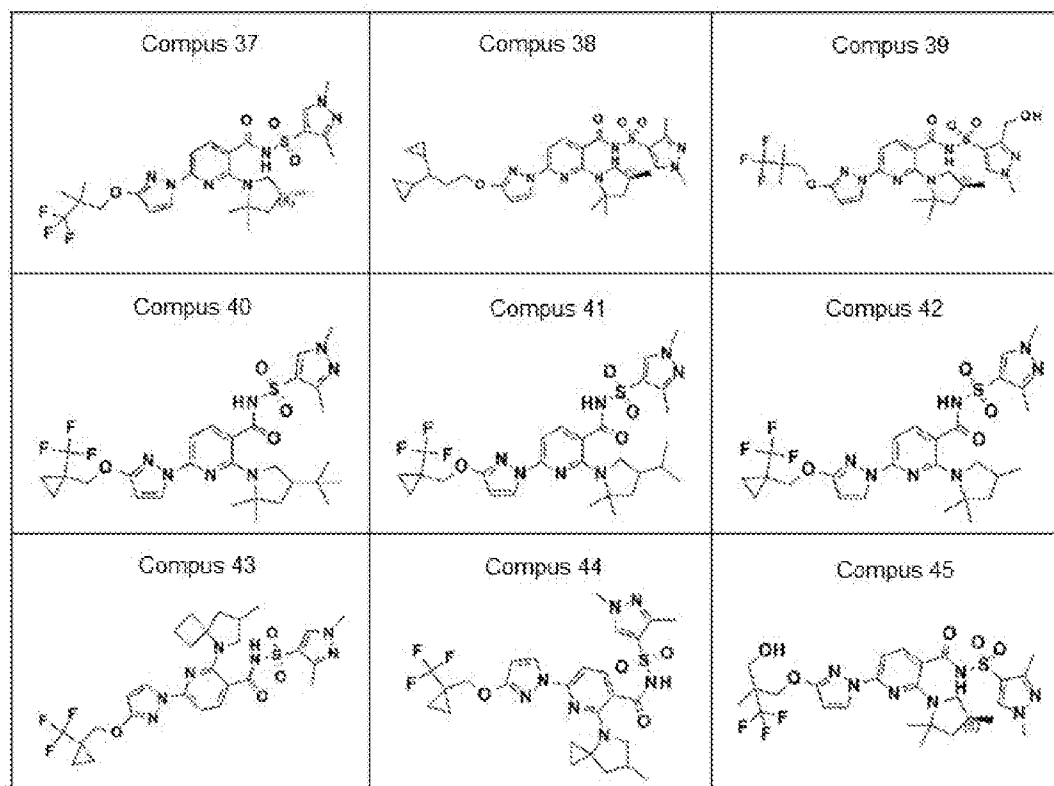


FIG. 1

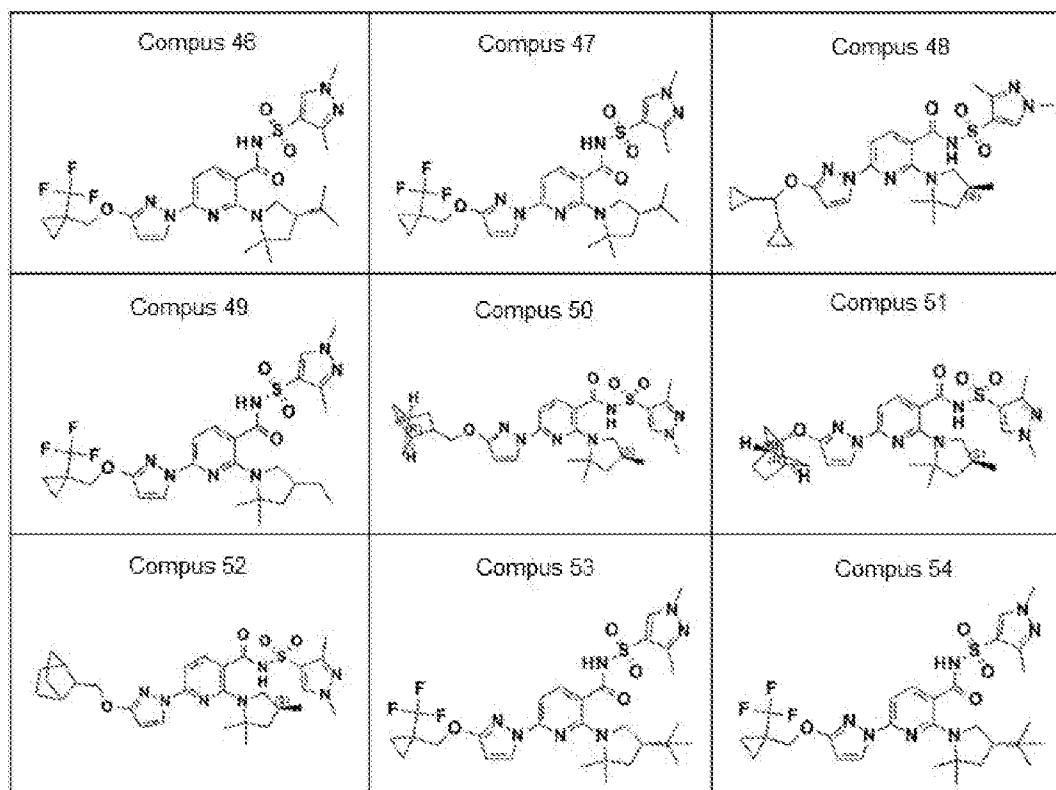


FIG. 1

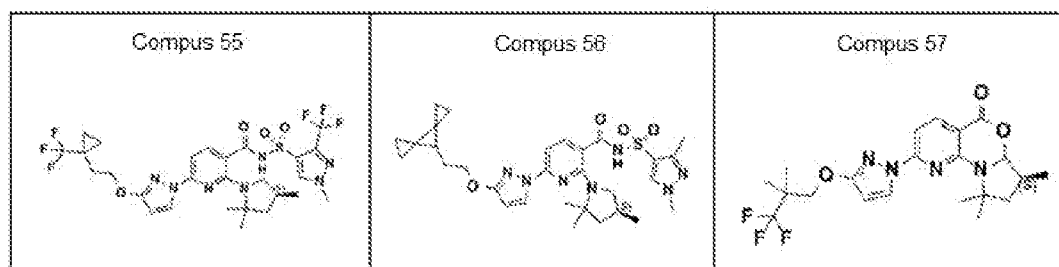


FIG. 1

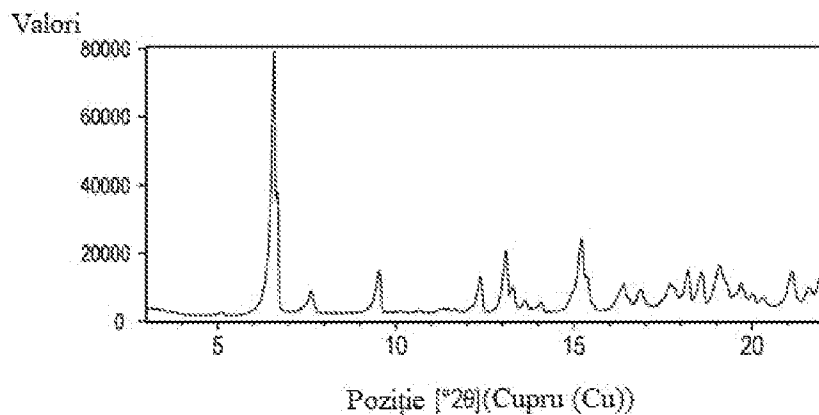


FIG. 2

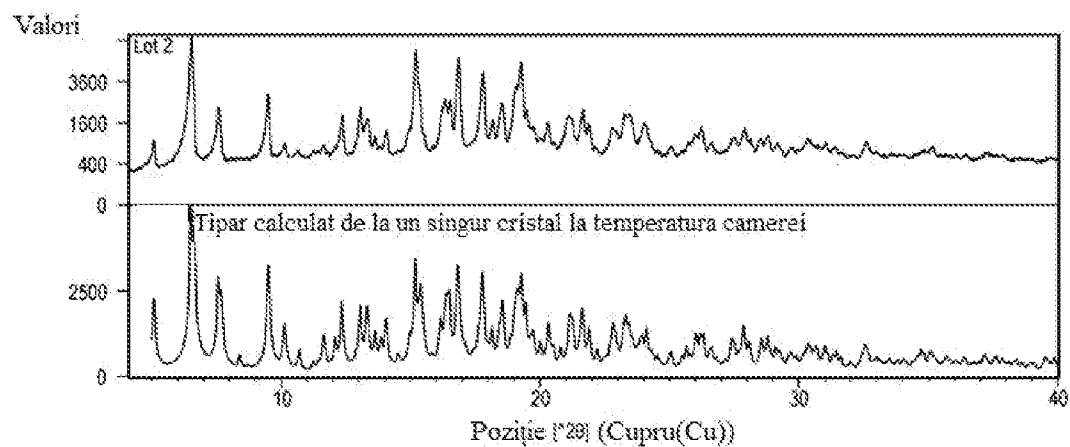


FIG. 3

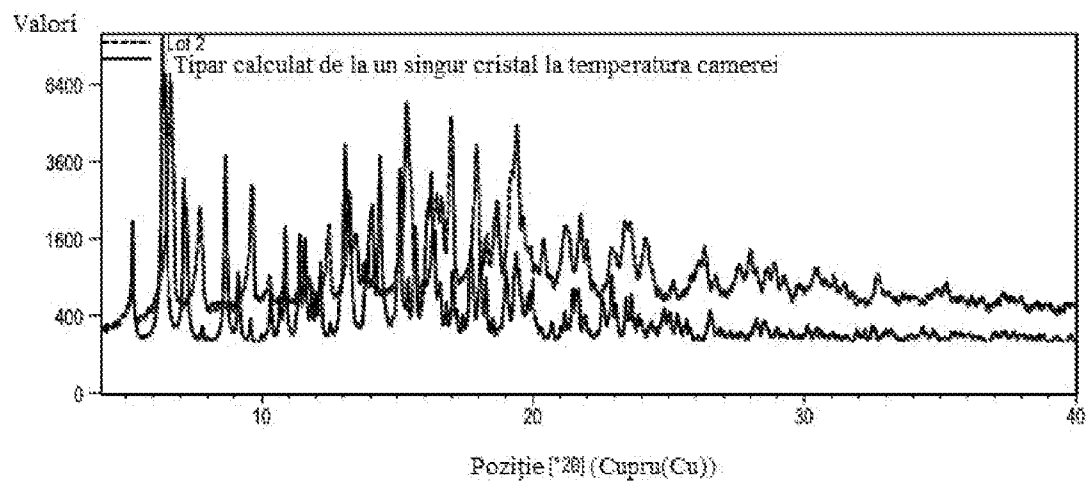


FIG. 4

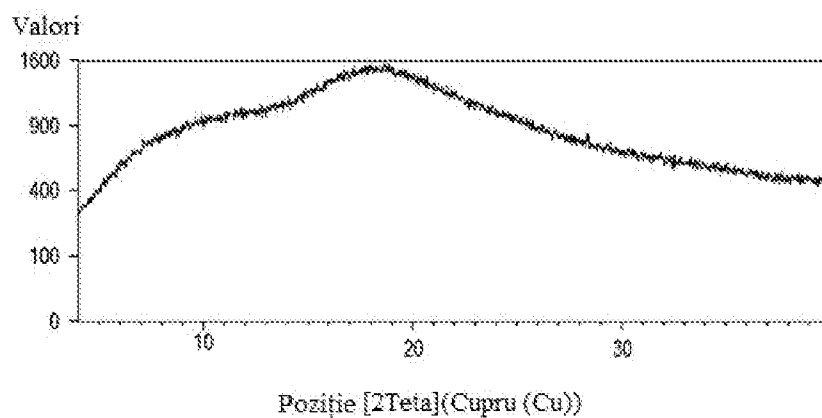


FIG. 5

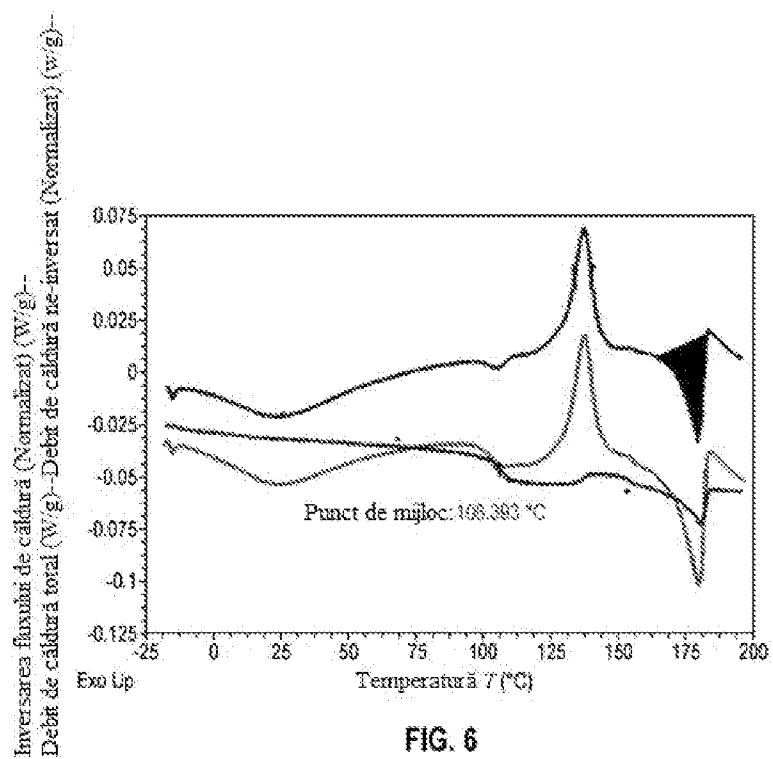


FIG. 6

Denumire mutație ADNc	Denumire mutație proteină	Denumire veche a mutației
c.1A>G	p.7 (necunoscută)	M1V
c.54- 594G_273+1625Gde 121kb	p.Ser18ArgfsX16	CFTRdele2.3
c.91C>T	p.Arg31Cys	R31C
c.115C>T	p.Gln39X	Q39X
c.137C>A	p.Ala46Asp	A46D
c.165-1G>A	Fără nume de proteină	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.Proc67Ileu	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	Fără nume de proteină	405+1G->A
c.274-1G>A	Fără nume de proteină	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.Tyr09GlyfsX4	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
c.489+1G>T	Fără nume de proteină	621+1G->T
c.531delT	p.Ile177MetfsX12	663delT
c.532G>A	p.Gly178Glu	G178R

FIG. 7

Denumire mutație ADNc	Denumire mutație proteină	Denumire veche mutație
c.543_546delTAGT	p.Leu183PhefsX5	675del4
c.579+1G>T	Fără nume de proteină	711+1G->T
c.579+3A>G	Fără nume de proteină	711+3A->G
c.579+5G>A	Fără nume de proteină	711+5G->A
c.580-1G>T	Fără nume de proteină	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.Phe315LeufsX1 2	1078delT
c.988G>T	p.Gly330X	G330X
c.1009C>T	p.Arg334Trp	R334W
c.1067T>A	p.Ile336Lys	I336K
c.1013C>T	p.Thr338Ile	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,Thr360Lys]	Q359K/T360K
c.1081delT	p.Trp361GlyfsX8	1213delT
c.1116+1G>A	Fără nume de proteină	1248+1G->A
c.1127_1128insA	p.Gln378AlafsX4	1259insA
c.1153_1154insAT	p.Asn386IlefsX3	1288insTA
c.1202G>A c.1203G>A	or p.Trp401X	W401X
c.1209+1G>A	Fără nume de proteină	1341+1G->A
c.1210-12[5]	Fără nume de proteină	5T

Denumire mutație ADNc	Denumire mutație proteină	Denumire veche mutație
c.1210-12[7]	Fără nume de proteină	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	Fără nume de proteină	1525-1G->A
c.1397C>A sau c.1397C>G	p.Ser466X	S466X
c.1400T>C	p.Leu467Pro	L467P
c.1408A>G	p.Met470Val	M470V
c.1418delG	p.Gly473GlnfsX54	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	Fără nume de proteină	1717-8G->A
c.1585-1G>A	Fără nume de proteină	1717-1G->A
c.1624G>T	p.Gly542X	G542X
c.1645A>C sau c.1647T>G	p.Ser549Arg	S549R
c.1646G>A	p.Ser549Asn	S549N
c.1650delA	p.Gly551ValfsX8	1782delA
c.1651G>A	p.Gly551Ser	G551S
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

Denumire mutație ADNc	Denumire mutație proteină	Denumire veche mutație
c.1679G>A	p.Arg560Lys	R560K
c.1679G>C	p.Arg560Thr	R560T
c.1679+1G>C	Fără nume de proteină	1811+1G->C
c.1679+1.6kbA>G	Fără nume de proteină	1811+1.6kbA->G
c.1680-1G>A	Fără nume de proteină	1812-1G->A
c.1682C>A	p.Ala561Cdu	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	Fără nume de proteină	1898+1G->A
c.1766+1G>C	Fără nume de proteină	1898+1G->C
c.1766+3A>G	Fără nume de proteină	1898+3A->G
c.1841A>G	p.Asp614Gly	D614G
c.1923_1931del9ins	p.Ser641ArgfsX5	2055del9->A
c.1973_1985del13insAGAAA	p.Arg658LysfsX4	2105-2117del13insA GAAA
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+
c.2052_2053insA	p.Gln685ThrfsX4	2184insA
c.2052delA	p.Lys684AsnfsX38	2184delA
c.21250T	p.Arg709X	R709X
c.2128A>T	p.Lys710X	K710X
c.2173_2176insA	p.Glu726ArgfsX4	2307insA
c.2195T>G	p.Leu732X	L732X
c.2215delG	p.Val739TyrfsX16	2347delG

Denumire mutație ADNc	Denumire mutație proteină	Denumire veche mutație
c.2260G>A	p.Val754Met	V754M
c.2296C>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.Leu818TyrfsX3	2585delT
c.2462_2463delGT	p.Ser821ArgfsX4	No legacy name
c.2464G>T	p.Glu822X	E822X
c.2490+1G>A	Fără nume de proteină	2622+1G->A
c.2491G>T	p.Glu831X	E831X
c.2537G>A c.2538G>A	or p.Tyr846X	W846X
c.2547G>A	p.Tyr849X	Y849X
c.2551C>T	p.Arg851X	R851X
c.2583delT	p.Phe861LeufsX3	2711delT
c.2657+2_2657+3insA	Fără nume de proteină	2789+2insA
c.2657+5G>A	Fără nume de proteină	2789+5G->A
c.2658+1G>C	Fără nume de proteină	2790+1G->C
c.2668C>T	p.Glu890X	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
c.2875delG	p.Ala959HisfsX9	3007delG
c.2908G>C	p.Gly970Arg	G970R
c.2930C>T	p.Ser977Phe	S977F
c.2988G>A	Fără nume de proteină	3120G->A
c.2988+1G>A	Fără nume de proteină	3120+1G->A
c.2989-977_3367+248del	Fără nume de proteină	3121-977_3499+248del2515
c.2989+1G>A	Fără nume de proteină	3121+1G->A

Denumire mutație ADNc	Denumire mutație proteină	Denumire veche mutație
c.2991G>C	p.Leu997Phe	L997F
c.3002_3063delTG	p.Val1001AspfsX45	3132delTG
c.3080T>C	p.His1027Thr	H1027T
c.3140_26A>G	Fără nume de proteină	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	or 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
c.3485G>T	p.Arg1162Leu	R1162L
c.3528delC	p.Lys1177SerfsX15	3659delC
c.3535_3536insTCA A	p.Thr1179IlefsX17	3667ins4
c.3587C>G	p.Ser1196X	S1196X
c.3605delA	p.Asp1202AlafsX9	3737delA
c.3611G>A c.3612G>A	or p.Trp1204X	W1204X
c.3659delC	p.Thr1220LysfsX8	3791delC

Denumire mutație ADNc	Denumire mutație proteină	Denumire veche mutație
c.3691delT	p.Ser1231ProfsX4	3821delT
c.3700A>G	p.Ile1234Val	11234V
c.3705T>G	p.Ser1235Arg	S1235R
c.3717+12191C>T	Fără nume de proteină	3849+10kbC->T
c.371S-1G>A	Fără nume de proteină	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.Leu1258PhefsX7	3905insT
c.3808G>A	p.Asp1270Asn	D1270N
c.3846G>A	p.Trp1282X	W1282X
c.3873+1G>A	Fără nume de proteină	4005+1G->A
c.3883delA	p.Ile1295PhefsX3	4015delA
c.3884_3885insT	c.Ser1297PhefsX5	4016insT
c.3909C>G	p.Asn1303Lys	N1303K
c.3937C>T	p.Gln1313X	Q1313X
c.3964-78_4242+577del	NULL	CFTRdele22,23
c.4046G>A	p.Gly1349Asp	G1349D
c.4077_4080delTGT TinsAA	Fără nume de proteină	4209TGTT->AA
c.4111G>T	p.Glu1371X	E1371X
c.4196_4197delTC	p.Cys1400X	4326delTC
c.4214C>T	p.Gln1412X	Q1412X
c.4242+1G>T	Fără nume de proteină	4374+1G->T
c.4251delA	p.Glu1418ArgfsX14	4382delA
c.4296_4297insGA	p.Ser1435GlyfsX14	4428insGA

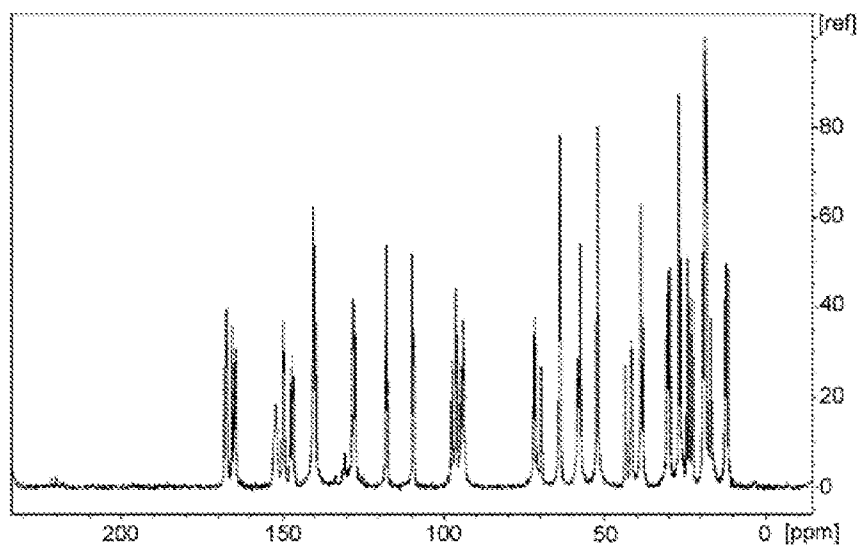


FIG. 8

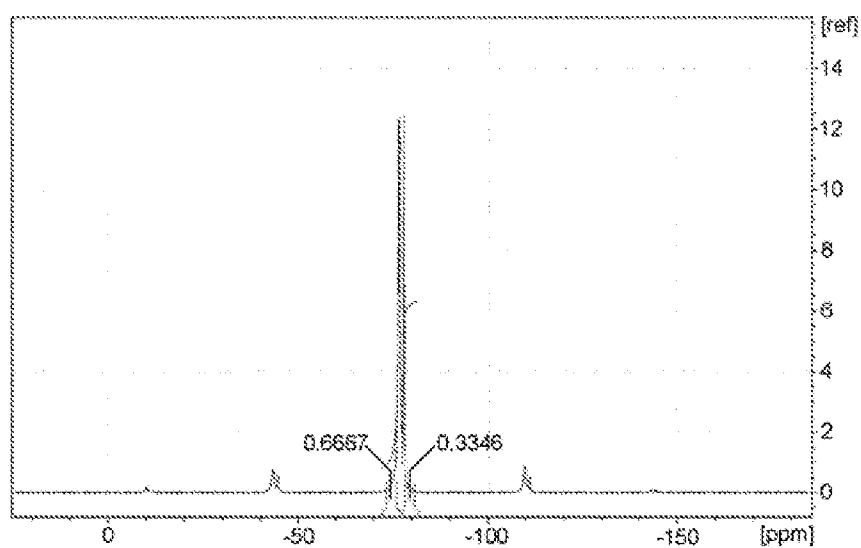


FIG. 9

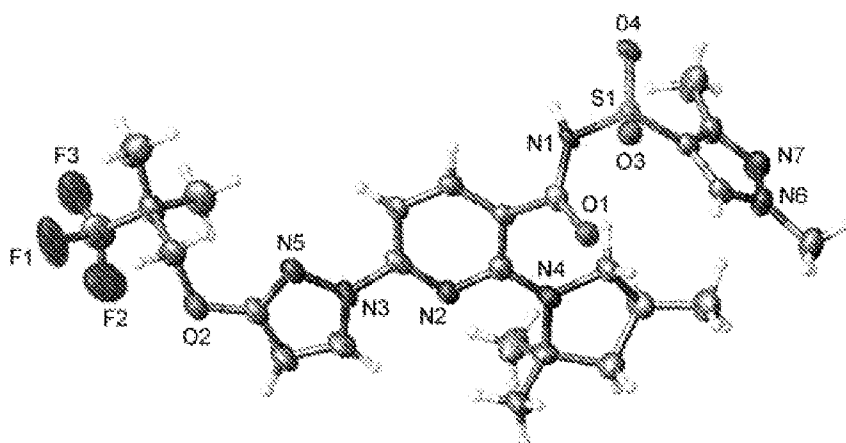


FIG. 10

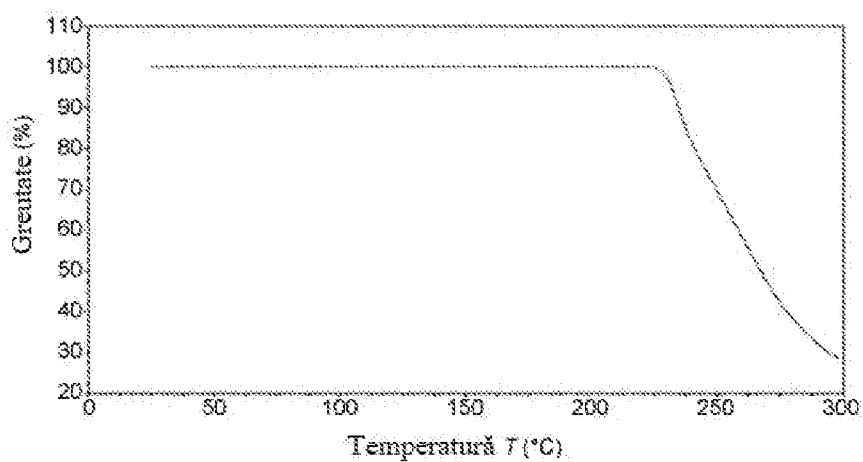


FIG. 11

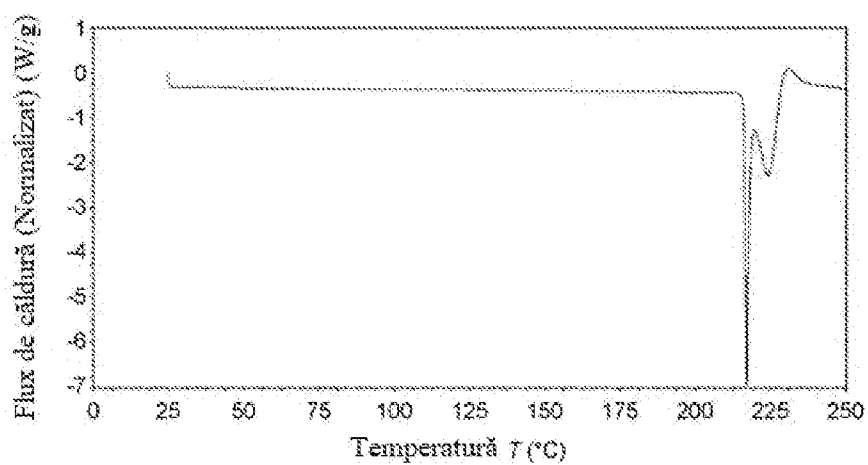


FIG. 12

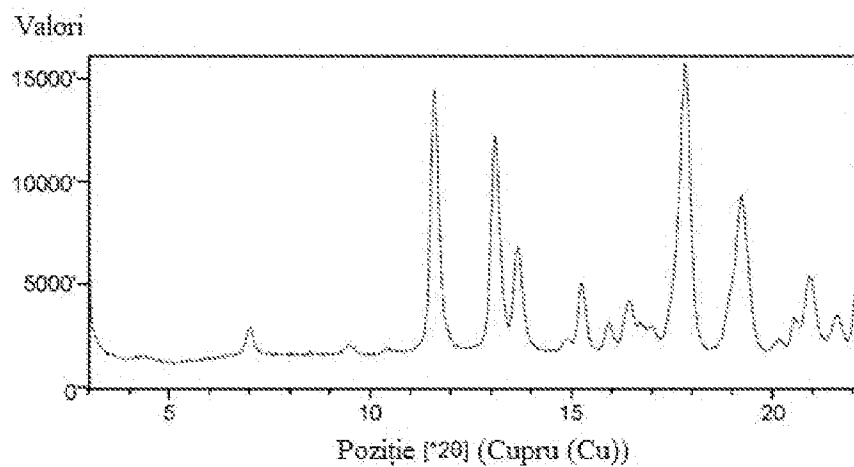


FIG. 13

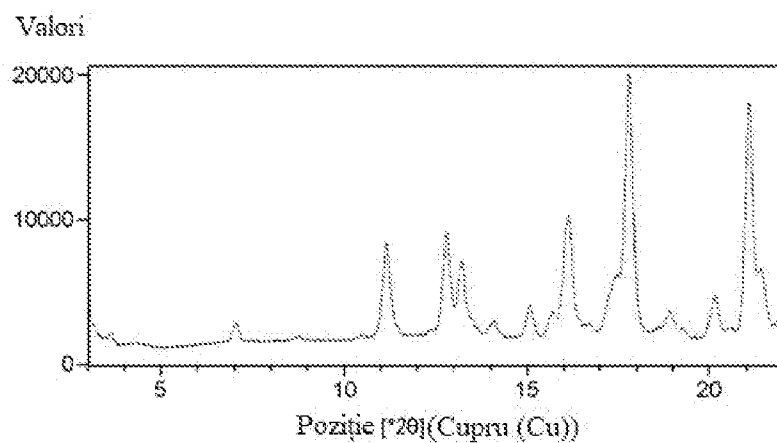


FIG. 14

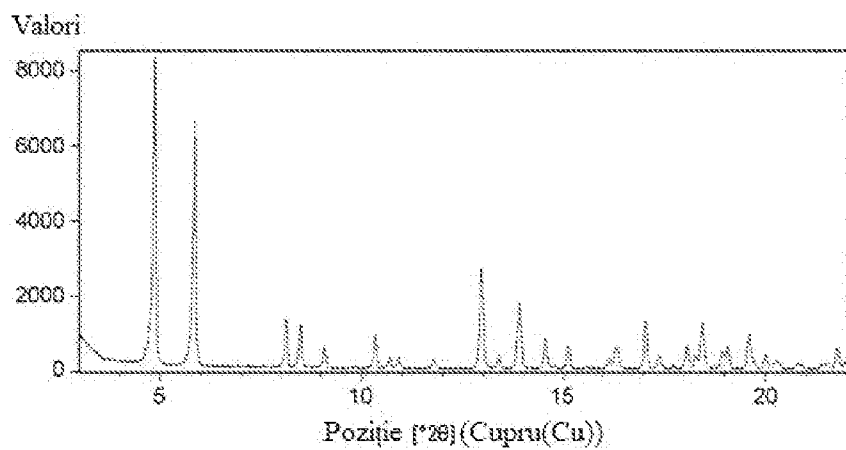


FIG. 15

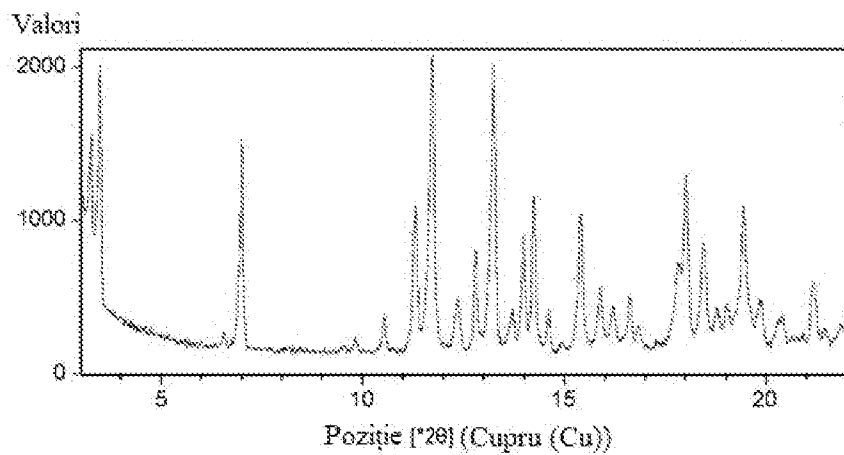


FIG. 16

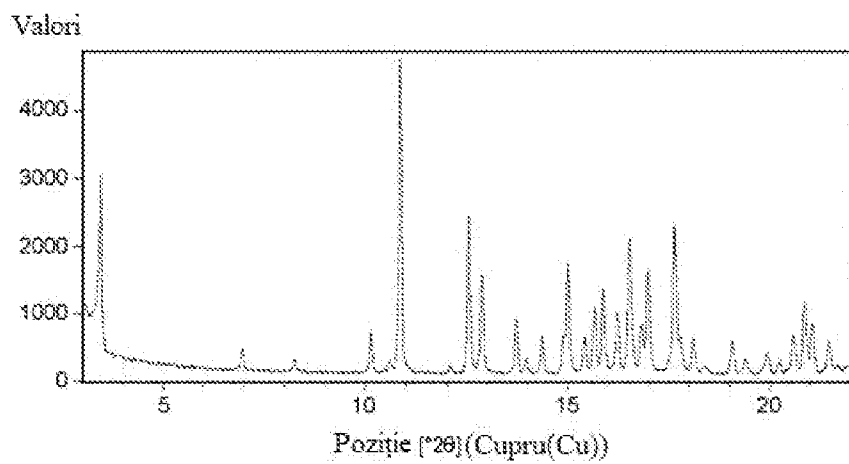


FIG. 17