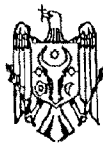




MD/EP 3989972 T2 2024.05.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3989972 (13) T2

(51) Int. Cl.: A61K 31/4439 (2006.01.01)  
C07D 405/14 (2006.01.01)  
A61P 3/10 (2006.01.01)

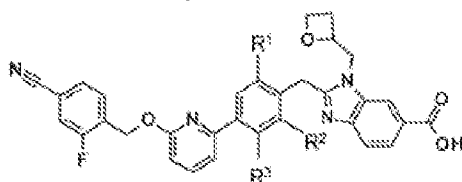
(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

<p>(21) Numărul de depozit: e 2022 0509</p> <p>(22) Data de depozit: 2020.06.19</p> <p>(96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 20739523.7, 2020.06.19</p> <p>(97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3989972, 2022.05.04</p> <p>(31) Numărul cererii prioritare: 201962868117 P; 201962904906 P</p> <p>(32) Data de depozit a cererii prioritare: 2019.06.28; 2019.09.24</p> <p>(33) Țara cererii prioritare: US; US</p>	<p>(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 05/2024, 2024.05.31</p> <p>(80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 45/2023, 2023.11.08</p> <p>(82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 05/2022, 2022.05.31</p>
<p>(71) Solicitant: ELI LILLY AND COMPANY, US</p> <p>(72) Inventatori: COATES David Andrew, US; FIELDS Todd, US; HO Joseph Daniel, US; QU Fucheng, US</p> <p>(73) Titular: ELI LILLY AND COMPANY, US</p> <p>(74) Mandatar autorizat: PARASCA Dumitru</p>	

(54) Agoniști ai receptorului peptidei-1 asemănătoare glucagonului

(57) Rezumat:

1  
Într-o realizare, prezenta invenție furnizează un compus cu formula:



2  
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, și metode pentru utilizarea acestui compus pentru tratarea diabetului zaharat de tip II.

Revendicări: 11

MD/EP 3989972 T2 2024.05.31



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

5 Această invenție se referă la agoniști ai receptorului peptidei-1 asemănători cu glucagonul și utilizări terapeutice ale compușilor pentru a trata diabetul zaharat de tip II.

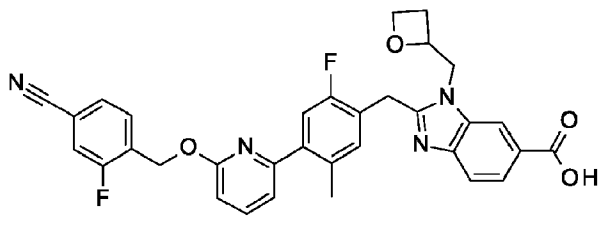
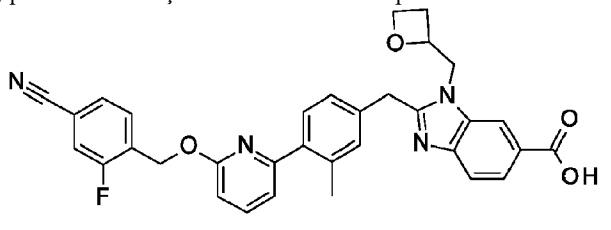
Peptida-1 asemănătoare cu glucagonul (GLP-1) este un membru al familiei incretinelor de hormoni peptidici secretați de către celulele L enteroendocrine intestinale. GLP-1 induce eliberarea de insulină din celulele beta într-o manieră dependentă de glucoză. Totuși, GLP-1 este rapid metabolizat astfel încât numai un mic procentaj din GLP-1 poate fi utilizat pentru a induce secreția de insulină. Pentru a compensa acest lucru, au fost dezvoltati agoniști ai receptorului GLP-1 (GLP-1R) pentru a ameliora secreția de insulină ca tratament pentru diabetul zaharat de tip II.

Majoritatea agoniștilor GLP-1R care au fost aprobați pentru a trata diabetul zaharat de tip II sunt agenți injectabili. Pacienții preferă adesea medicamentele administrate oral datorită dezavantajelor asociate cu injecția cum ar fi neplăcerea, durerea, și potențiala iritare a locului de injecție.

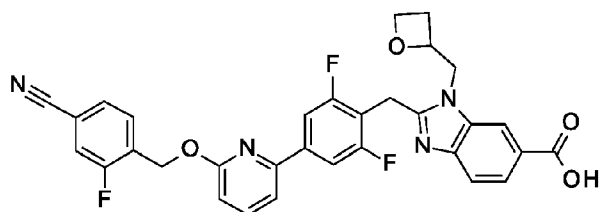
15 WO2018/109607 divulgă anumiți derivați benzimidazol, care sunt descriși ca agoniști GLP-1R.

Totuși, există o necesitate pentru agoniști GLP-1R alternativi. În particular, există o necesitate pentru agoniști GLP-1R care pot fi administrați oral. Există în special o necesitate pentru agoniști GLP-1R care au potență îmbunătățită, un profil toxicologic favorabil și/sau un profil farmacocinetic care susține dozarea o dată pe zi.

20 Corespunzător, prezenta invenție furnizează un compus selectat dintre:



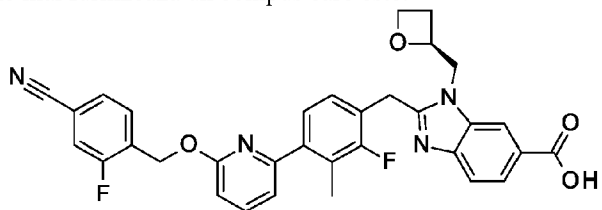
și



25

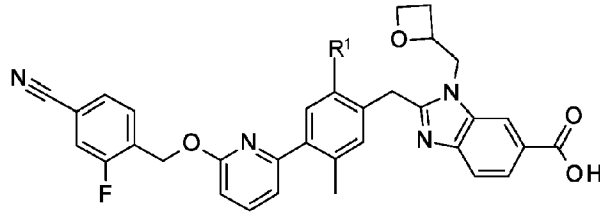
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție mai furnizează un compus care este:



30

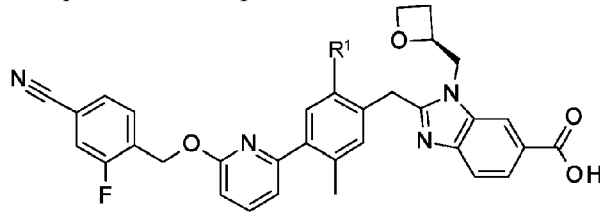
Într-o realizare, este prevăzut un compus cu formula:



Formula II

în care  $R^1$  este H sau F, sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia.

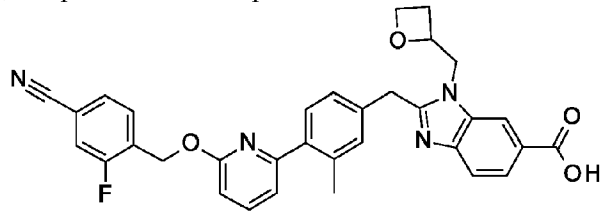
Într-o realizare, este prevăzut un compus cu formula:



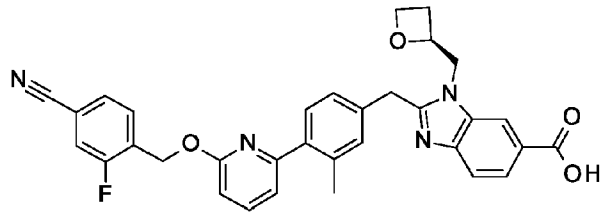
Formula IIa

5 în care  $R^1$  este H sau F, sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia.

Într-o realizare, compusul este un compus cu formula:



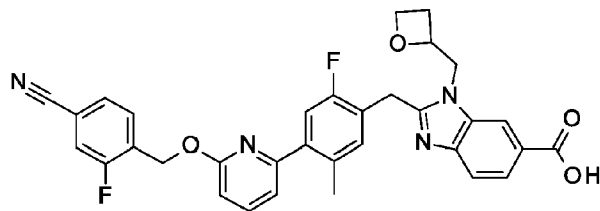
sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia. Într-o realizare preferată, compusul este un compus cu formula:



10

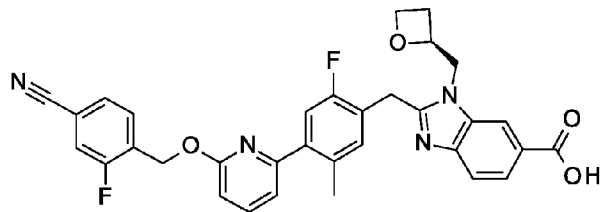
sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia.

Într-o realizare, compusul este un compus cu formula:

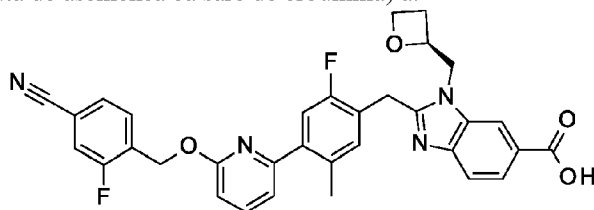


15

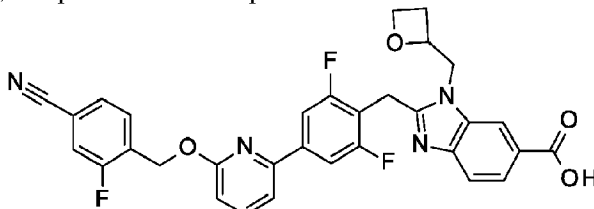
sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia. Într-o realizare preferată, compusul este un compus cu formula:



sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia. Într-o realizare în special preferată, este prevăzută sarea de terț-butilamină (cunoscută de asemenea ca sare de erbumină) a:

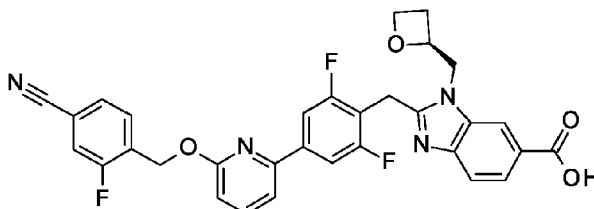


Într-o realizare, compusul este un compus cu formula:



5

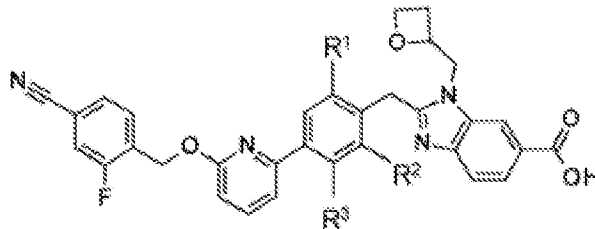
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia. Într-o realizare preferată, compusul este un compus cu formula:



sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

10

Sunt divulgați în acest document compuși cu formula:



Formula de referință I

în care

R<sup>1</sup> este H sau F;

R<sup>2</sup> este H sau F; și

15

R<sup>3</sup> este H sau CH<sub>3</sub>;

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Formula de referință I cuprinde Formulele II, IIa, și IIb, și referința la Formula I de mai jos, de exemplu în utilizările terapeutice, care trebuie de asemenea să fie citită ca referință la fiecare și la toate dintre aceste subformule.

20

Formula I include toți enantiomerii individuali, și amestecurile acestora, precum și racemații, și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestora.

Într-o altă realizare, este prevăzută o compoziție acceptabilă farmaceutic cuprinzând un compus cu Formula I, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, și cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic, diluant sau excipient. Într-o realizare preferată, compoziția acceptabilă farmaceutic este formulată pentru administrare orală.

25

Într-o realizare, este prevăzut un compus cu Formula I, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare în terapie.

Într-o altă realizare, este prevăzut un compus cu Formula I, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare în tratamentul diabetului zaharat de tip II.

30

Într-o altă realizare, este prevăzut un compus cu Formula I, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare în scăderea nivelurilor de glucoză din sânge.

Într-o altă realizare, este de asemenea prevăzut un compus cu Formula I, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare în tratarea hiperglicemiei.

Într-o realizare preferată, compusul cu Formula I este administrat oral. Într-o realizare preferată, compusul cu Formula I este administrat o dată zilnic. Într-o altă realizare preferată, utilizarea terapeutică este la un om.

Termenul „sare acceptabilă farmaceutic” așa cum s-a utilizat în acest document se referă la o sare dintr-un compus al invenției considerată ca fiind acceptabilă pentru utilizare clinică și/sau veterinară. Exemplele de săruri acceptabile farmaceutic și metodologiile comune pentru prepararea acestora pot fi găsite în „Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use” P. Stahl, și colab., a 2-a ediție revizuită, Wiley-VCH, 2011 și S.M. Berge, și colab., „Pharmaceutical Salts”, Journal of Pharmaceutical Sciences, 1977, 66(1), 1-19.

Exemplele de compoziții farmaceutice și procedee pentru prepararea acestora pot fi găsite în „Remington: The Science and Practice of Pharmacy”, Loyd, V., și colab. Eds., a 22-a ediție, Mack Publishing Co., 2012. Într-o realizare, compozițiile farmaceutice pot fi formulate pentru administrare orală. Preferabil compozițiile farmaceutice sunt formulate ca tabletă, capsule, sau ca o soluție. Tableta, capsulele, sau soluția pot include un compus cu Formula I într-o cantitate eficientă pentru tratarea unui pacient care are nevoie de tratament.

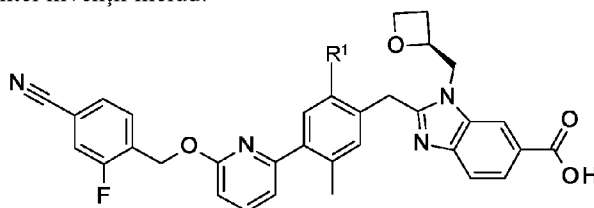
Termenul „cantitate eficientă” se referă la cantitatea sau doza dintr-un compus cu Formula I, sau la o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, care, după administrarea unei singure sau a mai multor doze pacientului, furnizează efectul dorit la pacientul sub diagnostic sau tratament. Medicul curant, ca o persoană calificată în domeniu, poate determina cu ușurință o cantitate eficientă prin utilizarea tehnicilor convenționale și prin observarea rezultatelor obținute în circumstanțe analoage. Factorii luați în considerare în determinarea unei cantități eficiente sau doze dintr-un compus includ: dacă va fi administrat compusul sau sarea sa; coadministrarea altor agenți, dacă sunt utilizați; specia de mamifer care urmează să fie tratată; dimensiunea sa, vârsta, și sănătatea generală; gradul de implicare sau severitatea tulburării; răspunsul mamiferului individual; modul de administrare; caracteristicile de biodisponibilitate ale preparării administrate; regimul de dozare selectat; și alte circumstanțe relevante. Compușii prezentei invenții sunt eficienți la un dozaj pe zi care se încadrează în intervalul de la aproximativ 0,01 până la aproximativ 15 mg/kg din greutatea corporală.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenii „tratarea”, „pentru a trata”, sau „tratament”, se referă la scăderea, reducerea, sau inversarea progresului sau severității unui simptom, tulburări, sau afecțiuni existente, cum ar fi hiperglicemia, care poate include creșterea secreției de insulină.

Compușii cu Formula I pot fi formulați ca compoziții farmaceutice administrate pe orice cale care face compusul biodisponibil. Preferabil, astfel de compoziții sunt pentru administrare orală. Astfel de compoziții farmaceutice și procedee pentru prepararea acestora sunt bine cunoscute în domeniu (vezi, de exemplu, Remington, J. P., „Remington: The Science and Practice of Pharmacy”, L.V. Allen, Editor, ediția a 22-a, Pharmaceutical Press, 2012).

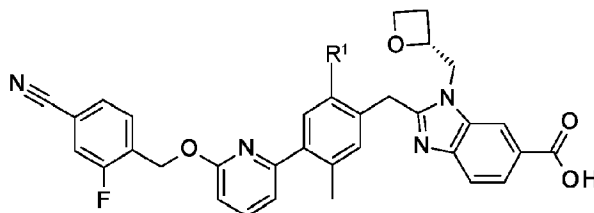
Compușii cu Formula și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestora sunt utili în utilizările terapeutice invenției, cu anumite configurații fiind preferate.

Compușii prezentei invenții includ:



Formula IIa;

și



Formula IIb,

sau săruri acceptabile farmaceutic ale acestora.

Deși prezenta invenție are în vedere toți enantiomerii individuali, amestecurile acestora, și racemații, compușii cu Formula IIa și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestora, sunt în special preferați.

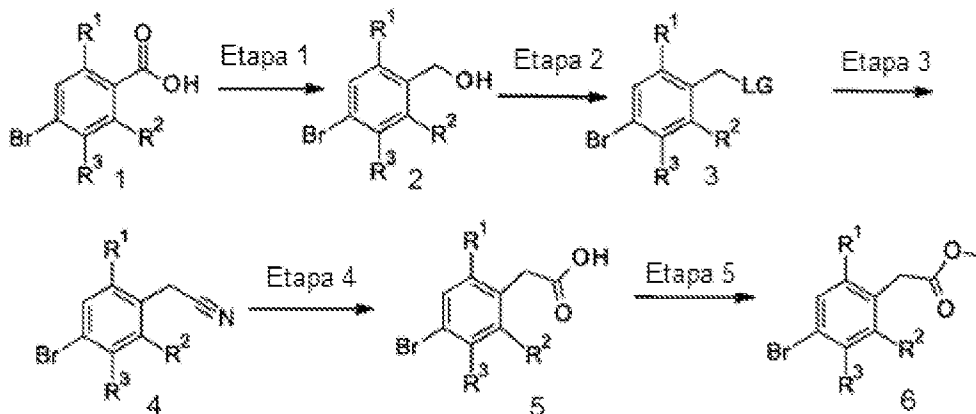
5 Enantiomerii individuali pot fi separați sau rezolvați de către cineva având calificare obișnuită în domeniu în orice moment convenabil din sinteza compușilor invenției, prin metode cum ar fi tehnici de cristalizare selective, cromatografie chirală (vezi de exemplu, J. Jacques, și colab., „Enantiomers, Racemates, and Resolutions”, John Wiley & Sons, Inc., 1981, și E.L. Eliel și S.H. Wilen”, Stereochemistry of Organic Compounds”, Wiley-Interscience, 1994), sau cromatografie în fluid  
10 supercritic (SFC) (vezi de exemplu, T. A. Berger; „Supercritical Fluid Chromatography Primer”, Agilent Technologies, iulie 2015).

O sare acceptabilă farmaceutic a compușilor invenției poate fi formată, de exemplu, prin reacția dintre un compus cu Formula I și o bază acceptabilă farmaceutic adecvată într-un solvent adecvat sub condiții standard bine cunoscute în domeniu (vezi, de exemplu, Bastin, R.J., și colab.; Org. Process. Res.  
15 Dev., 4, 427-435, 2000 și Berge, S.M., și colab.; J. Pharm. Sci., 66, 1-19, 1977). O sare preferată este sarea de terț-butilamină (sau erbumină).

Anumite abrevieri utilizate aici sunt definite în conformitate cu Daub G.H., și colab., „Use of Acronyms in Organic Chemistry” Aldrichimica Acta, 1984, 17(1), 6-23. Anumite abrevieri sunt definite după cum urmează: „ACN” se referă la acetonitril; „ATP” se referă la adenozin trifosfat; „BSA” se referă  
20 la albumină din ser bovin; „AMPC” se referă la adenozină-3',5'-monofosfat ciclică; „DCM” se referă la diclorometan sau clorură de metilen; „DIPEA” se referă la N,N-diizopropiletilamină; „DMF” se referă la N,N-dimetilformamidă; „DMSO” se referă la dimetil sulfoxid; „EC<sub>50</sub>” se referă la concentrația unui agent care produce un răspuns de 50% din activitatea țintă în comparație cu un compus de control pozitiv predefinit (EC<sub>50</sub> absolut); „ES/MS” se referă la spectrometrie de masă prin electropulverizare; „EtOAc” se referă la acetat de etil; „HATU” se referă la 3-oxid hexafluorofosfat de 1-[bis(dimetilamino)metilen]-1H-  
25 1,2,3-triazolo[4,5-b]piridiniu; „HEK” se referă la rinichi embrionar uman; „HEPES” se referă la acid 4-(2-hidroxietyl)-1-piperazinetsulfonic; „h” se referă la ore sau oră, respectiv; „MeOH” se referă la metanol sau metil alcool; „min” se referă la minut sau minute; „Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>” se referă la [1,1'-bis(difenilfosfino)ferocen]dicloropaladiu(II); „RT” se referă la temperatura camerei; și „THF” se referă la tetrahidrofuran.

Compușii prezentei invenții pot fi preparați printr-o varietate de proceduri, din care unele sunt ilustrate în Preparările și Exemplele de mai jos. Etapele de sinteză specifice pentru fiecare din căile  
descrie pot fi combinate în diferite moduri, pentru a prepara compușii invenției, sau sărurile acestora. Produsul fiecărei etape de mai jos poate fi recuperat prin metode convenționale, incluzând extragere,  
35 evaporare, precipitare, cromatografie, filtrare, triturare, și cristalizare. Reactivii și materiile prime sunt cu ușurință disponibile cuiva având calificare obișnuită în domeniu. Izomerii, enantiomerii, și diastereomerii individuali pot fi separați sau rezolvați în orice moment convenabil din sinteză, prin metode cum ar fi, tehnici de cristalizare selective sau cromatografie chirală (vezi de exemplu, J. Jacques, și colab., „Enantiomers, Racemates, and Resolutions”, John Wiley & Sons, Inc., 1981, și E.L. Eliel și S.H. Wilen”, Stereochemistry of Organic Compounds”, Wiley-Interscience, 1994). Fără a limita domeniul invenției,  
40 următoarele preparări, și exemple sunt furnizate pentru a ilustra mai departe invenția.

Schema 1

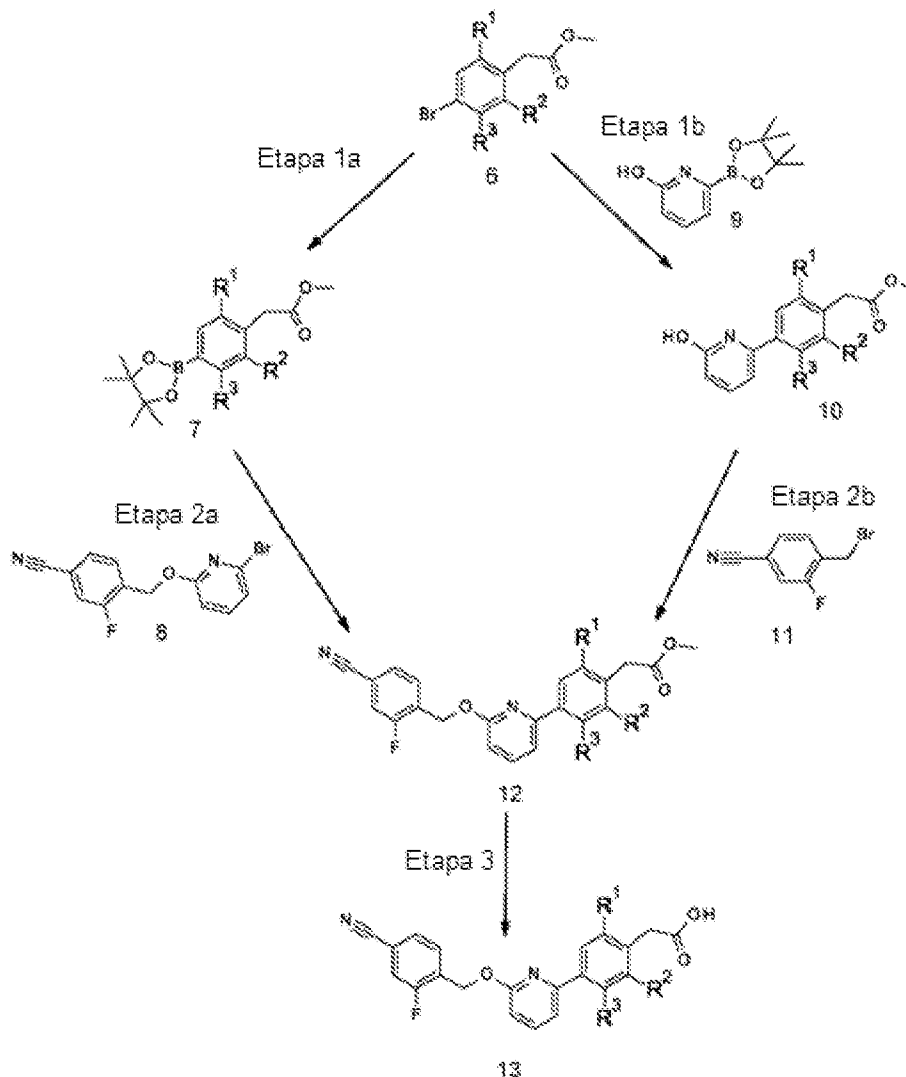


LG = grupare îndepărtabilă

$R^1$ ,  $R^2$ , și  $R^3$  sunt cum s-a definit pentru Formula I

Schema 1 prezintă sinteza intermediarului 6, care este utilizat în prepararea compușilor cu Formula I. Acidul benzoic 1 suferă mai întâi reducerea cu complex de dimetilsulfură de boran în Etapa 1 până pentru a da alcoolul 2. Alcoolul este convertit la o grupare îndepărtabilă (LG, intermediarul 3). De exemplu, alcoolul din intermediarul 2 poate fi convertit într-o grupare mesilat utilizând clorură de metansulfonil la  $-15^\circ\text{C}$  în Etapa 2, sau el poate fi convertit la o bromură utilizând tribromură de fosfor la  $0^\circ\text{C}$ . Intermediarul 3 este reacționat cu NaCN în Etapa 3 pentru a da nitrilul 4. Nitrilul 4 este convertit cu KOH la temperatură ridicată în Etapa 4 pentru a da acidul 5, care este apoi esterificat în Etapa 5 pentru a da intermediarul 6 utilizând clorură de oxalil, DMF, și metanol.

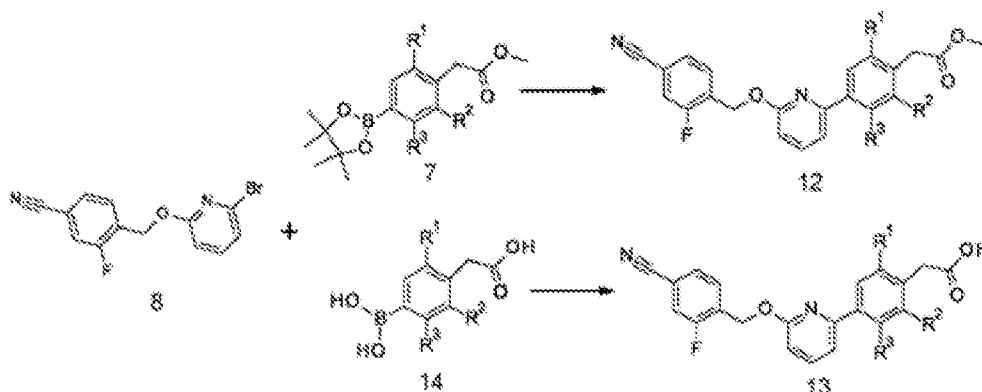
Schema 2



$R^1$ ,  $R^2$ , și  $R^3$  sunt cum s-au definit pentru Formula I

Schema 2 ilustrează prepararea cheii intermediare 12 pentru prepararea compușilor cu Formula I pe două căi. În prima cale, aril halogenura 6 suferă o cuplare borilare Miyura/Suzuki într-un singur vas: utilizând bis(pinacolato)diboron,  $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ , și acetat de potasiu la temperatură ridicată, aril halogenura 6 este convertită în Etapa 1a la esterul boronic 7, după care la reacție se adaugă bromopiridina 8 și  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (Etapa 2a) dând intermediarul 12. În cea de a doua cale, este utilizat un proces în două etape: cuplarea Suzuki a aril halogenurii 6 cu esterul pinacol al acidului 6-hidroxipiridin-2-boronic 9 utilizând  $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$  și  $\text{K}_2\text{CO}_3$  la temperatură ridicată (Etapa 1b) furnizează intermediarul 10, care este apoi alchilat cu 4-(bromometil)-3-fluorobenzonitrilul 6 utilizând  $\text{Ag}_2\text{CO}_3$  la temperatură ridicată (Etapa 2b) pentru a da intermediarul 12. Hidroliza esterului intermediarului 12 în Etapa 3 utilizând LiOH dă acidul intermediar 13.

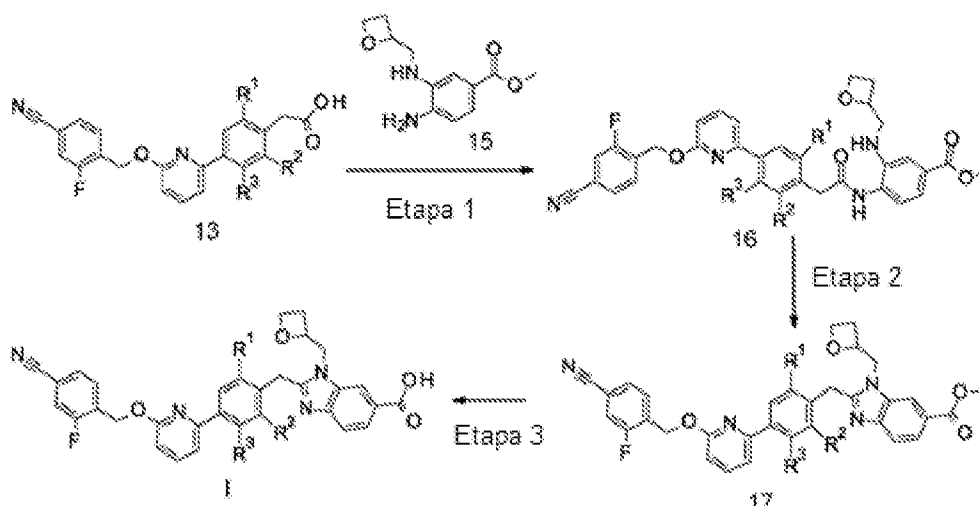
Schema 3



R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, și R<sup>3</sup> sunt cum s-au definit pentru Formula I.

Alternativ, intermediarii cheie 12 și 13 pot fi preparați în conformitate cu Schema 3, cuplând bromopiridina 8 cu esterul boronic 7 sau acidul boronic 14 utilizând Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> și carbonatul de potasiu la temperatură ridicată.

Schema 4



R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, și R<sup>3</sup> sunt cum s-au definit pentru Formula I.

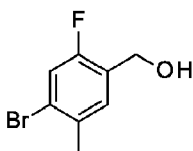
Schema 4 prezintă conversia intermediarului cheie 13 la compușii cu Formula I. Cuplarea amidei în Etapa 1 utilizând HATU și dianilina 15 dă intermediarul 16. Ciclizarea (Etapa 2) este realizată prin încălzirea intermediarului 16 în acid acetic pentru a da benzimidazol 17. În final, în Etapa 3 compușii cu Formula I sunt obținuți prin hidroliza lui 17 utilizând LiOH.

#### Preparări și Exemple

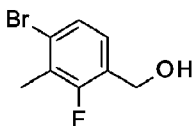
LC-ES/MS este efectuată pe un sistem cu cromatografie de lichide AGILENT® HP1200. Măsurătorile de spectrometrie de masă prin electropulverizare (dobândite în mod pozitiv și/sau negativ) sunt efectuate pe un spectrometru de masă cvadripol cu detector selectiv de masă interfațat la un HPLC care poate sau nu poate să aibă un ELSD. Condiții LC-ES/MS (pH scăzut): coloană: FENOMENEX® GEMINI® NX C18 2,0 × 50 mm 3,0 μm, 110 Å; gradient: 5-95% B în 1,5 min, apoi 95% B timp de 0,5 min temperatura coloanei: 50°C +/-10°C; debit: 1,2 mL/min; 1 μL volum de injecție; solvent A: apă deionizată cu 0,1% HCOOH; solvent B: ACN cu 0,1% acid formic; lungime de undă 200-400 nm și 212-216 nm. Dacă HPLC este echipat cu un ELSD setările sunt 45°C temperatura evaporatorului, 40°C temperatura nebulizatorului, și 1,6 SLM debit de gaz. Condiții LC-MS alternative (pH ridicat): coloană: coloană Waters xBridge® C18 2,1×50 mm, 3,5 μm; gradient: 5-95% B în 1,5 min, apoi 95% B timp de 0,50 min; temperatura coloanei: 50°C +/-10°C; debit: 1,2 mL/min; 1μL volum de injecție; solvent A: 10 mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> pH 9; solvent B: ACN; lungime de undă: 200-400 nm și 212-216nm; dacă a avut ELSD: 45°C temperatura evaporatorului, 40°C temperatura nebulizatorului, și 1,60 SLM debit de gaz.

Tiparele de difracție cu raze X pe pulbere (XRPD) ale solidelor cristaline sunt obținute pe un difractometru cu raze X pe pulbere Bruker D4 Endeavor, echipat cu o sursă CuKα și un detector Vantec, care operează la 35 kV și 50 mA. Mostra este scanată între 4 și 40 2θ°, cu o dimensiune a pasului de

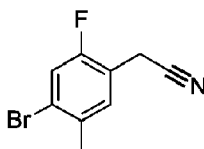
0,008 2 $\theta$  și o rată de scanare de 0,5 secunde/etapă, și utilizând o divergență de 1,0 mm, anti-dispersie fixată de 6,6 mm, și fante de detectare de 11,3 mm. Pulberea uscată este ambalată pe un suport pentru mostră din cuarț și o suprafață netedă este obținută utilizând o lamelă din sticlă. Tiparele de difracție ale formei cristaline sunt colectate la temperatură ambiantă și umiditate relativă. Pozițiile maximelor cristalului sunt determinate în MDI-Jade după deplasarea întregului tipar pe baza unui standard NIST 675 intern cu maxime la 8,853 și 26,774 2 $\theta$ . Este bine cunoscut în domeniul cristalografiei că, pentru orice formă cristalină dată, intensitățile relative ale maximelor de difracție pot varia din cauza orientării preferate care rezultă din factori cum ar fi morfologia cristalului și formă. Unde efectele de orientare preferată sunt prezente, intensitățile maxime sunt alterate, dar pozițiile maximelor caracteristice ale polimorfei sunt nemodificate. Vezi, *de exemplu* The United States Pharmacopeia #23, National Formulary #18, paginile 1843-1844, 1995. Mai mult, este de asemenea bine cunoscut în domeniul cristalografiei că pentru orice formă cristalină dată, pozițiile maximelor unghiulare pot varia puțin. De exemplu, pozițiile maximelor se pot deplasa din cauza unei variații a temperaturii la care o mostră este analizată, a deplasării mostrei, sau a prezenței sau absenței unui standard intern. În cazul de față, variabilitatea poziției unui maxim de  $\pm 0,2$  2 $\theta$  este presupusă ca ținând seama de aceste potențiale variații fără a împiedica identificarea fără echivoc a formei cristaline indicate. Confirmarea unei forme cristaline poate fi făcută pe baza oricărei combinații unice a maximelor distinctive.

**Preparare 1****(4-Bromo-2-fluoro-5-metilfenil)metanol**

La un flacon se adaugă: acid 4-bromo-2-fluoro-5-metilbenzoic (100 g, 421 mmol), THF (200 mL) și boran (complex de sulfură de dimetil, 2 mol/L soluție în THF, 210 mL, 10 mmol). Se agită amestecul la RT peste noapte. Se stinge amestecul de reacție cu HCl (1,0 N soluție apoasă, 50 mL) și se filtrează amestecul. Se concentrează filtratul *in vid* și se partiționează reziduul între EtOAc (400 mL) și apă (400 mL). Se spală organicele cu soluție apoasă saturată de NaCl (400 mL), se usucă pe Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtrează, și se concentrează pentru a da compusul din titlu ca solid (93,5 g, 99%). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7,29 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,26 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 4,69 (s, 2H), 2,38 (s, 3H).

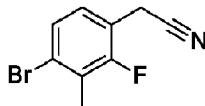
**Preparare 2****(4-Bromo-2-fluoro-3-metil-fenil)metanol**

Se prepară compusul din titlu în mod esențial cum s-a descris în Preparare 1 utilizând acid 4-bromo-2-fluoro-3-metilbenzoic. Se purifică produsul prin cromatografie pe gel de siliciu utilizând un gradient de 10 până la 35% EtOAc în hexani. Timp de retenție al maximumului LC-ES/MS: 1,01 min.

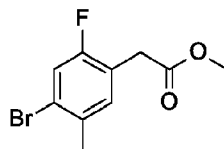
**Preparare 3****2-(4-Bromo-2-fluoro-5-metilfenil)acetonitril**

Se dizolvă (4-bromo-2-fluoro-5-metilfenil)metanol (92 g, 420 mmol) în DCM (500 mL) și se adaugă trietilamină (120 mL, 861 mmol). Se răcește amestecul la -15°C și se adaugă o soluție de clorură de metansulfonil (40 mL, 517 mmol) în DCM (30 mL) în picătură la amestecul de reacție. Se agită amestecul timp de 30 min la RT. Se partiționează amestecul de reacție între DCM (500 mL) și apă (500 mL). Se spală organicele cu soluție apoasă saturată de NaCl (500 mL), se usucă pe Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtrează, și se concentrează. Se dizolvă reziduul în DMF (400 mL) și se răcește amestecul într-o baie cu gheață. Se adaugă NaCN (21,0 g, 429 mmol) într-o porție la amestecul de reacție și se agită la RT peste noapte. Se partiționează amestecul între EtOAc (400 mL) și apă (500 mL). Se spală organicele cu soluție apoasă saturată de NaCl (500 mL), se usucă pe Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtrează, și se concentrează. Se purifică reziduul prin

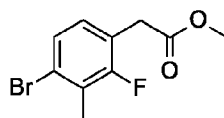
cromatografie pe gel de siliciu utilizând un gradient de 10 până la 30% EtOAc în hexani pentru a da compusul din titlu (47,0 g, 48%) ca un ulei.  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,34 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H), 7,32 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 3,71 (s, 2H), 2,41 (s, 3H).

**Preparare 4**5 **2-(4-Bromo-2-fluoro-3-metil-fenil)acetonitril**

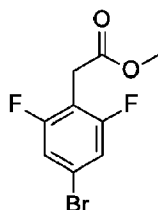
Se amestecă împreună (4-bromo-2-fluoro-3-metil-fenil)metanol (1,90 g, 8,67 mmol) și DCM (20 mL). Se răcește amestecul până la  $0^\circ\text{C}$ , apoi se adaugă tribromură de fosfor (1,0 mL, 11 mmol) în picătură. Se agită amestecul la  $0^\circ\text{C}$  timp de 15 min, apoi se alcalinizează amestecul cu  $\text{AnHCO}_3$  apos saturat (10 mL). Se extrage amestecul cu DCM (40 mL). Se spală organicele cu saramură (30mL), se usucă pe ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtrează și se concentrează pentru a da un solid. Se dizolvă solidul în DMSO (10 mL), apoi se adaugă NaCN (0,60 g, 13,0 mmol) și se agită timp de 1 oră. Se partiționează amestecul între EtOAc (50 mL) și apă (50 mL). Se spală organicele cu saramură (50 mL), se usucă pe  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtrează și se concentrează pentru a da produsul ca solid (1,3 g, 64%). Timp de retenție al maximului LC-ES/MS: 1,17 min.

**Preparare 5**20 **2-(4-Bromo-2-fluoro-5-metil-fenil)acetat de metil**

La un flacon se adaugă: 2-(4-bromo-2-fluoro-5-metilfenil)acetonitril (1,20 g, 5,10 mmol), etanol (5 mL), apă (3 mL), și hidroxid de potasiu (0,90 g, 16 mmol). Se încălzește amestecul la  $90^\circ\text{C}$  peste noapte. Se răcește amestecul într-o baie cu gheață și se acidulează cu 1,0 M HCl la pH 4-5, apoi se partiționează amestecul între EtOAc (30 mL) și apă (30 mL). Se spală organicele cu soluție apoasă saturată de NaCl (30 mL), se usucă pe  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtrează, și se concentrează pentru a da acidul 2-(4-bromo-2-fluoro-5-metil-fenil)acetic ca solid. Se dizolvă acesta în DCM (10 mL), apoi se adaugă DMF (0,05 mL, 0,6 mmol) și clorură de oxalil (0,5 mL, 6 mmol) la RT. Se agită amestecul la RT timp de 30 min, apoi se adaugă MeOH (2 mL, 49,4 mmol) în picătură. După 30 min, se îndepărtează solventul *in vid* și se partiționează reziduul între EtOAc (40 mL) și 5%  $\text{NaHCO}_3$  (30 mL). Se spală organicele cu soluție apoasă saturată de NaCl (40 mL), se usucă pe  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtrează, și se concentrează pentru a da compusul din titlu ca un ulei (1,1 g, 80%). ES/MS  $m/z$  ( $^{79}\text{Br}$ ,  $^{81}\text{Br}$ ) 278,280 ( $\text{M}+\text{NH}_4^+$ ).

**Preparare 6**35 **2-(4-Bromo-2-fluoro-3-metil-fenil)acetat de metil**

Se prepară compusul din titlu în mod esențial cum s-a descris în Preparare 5 utilizând 2-(4-bromo-2-fluoro-3-metil-fenil)acetonitril. Timp de retenție al maximului LC-ES/MS: 1,22 min.

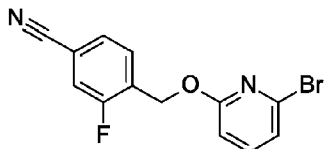
**Preparare 7**40 **2-(4-Bromo-2,6-difluorofenil)acetat de metil**

Se amestecă acidul 4-bromo-2,6-difluorofenilacetic (3,30 g, 12,5 mmol), DCM (20 mL), DMF (0,05 mL, 0,6 mmol), și clorura de oxalil (1,3 mL, 15 mmol). Se agită amestecul la RT timp de 30 min, apoi se adaugă MeOH (1,5 mL, 37 mmol, 100% din masă) în picătură. Se concentrează amestecul și se

partiționează între EtOAc (30 mL) și NaHCO<sub>3</sub> apos saturat (15 mL). Se spală organicele cu soluție apoasă saturată de NaCl (30 mL), se usucă pe Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtrează, și se concentrează pentru a da compusul din titlu ca un ulei (3,41 g, randament cantitativ), care este utilizat fără purificare suplimentară în Preparare 10. ES/MS *m/z* (<sup>79</sup>Br, <sup>81</sup>Br) 265,267 (M+H).

5 **Preparare 8**

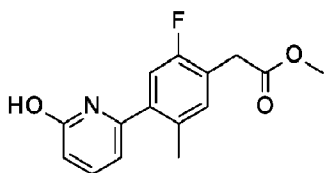
**4-[(6-Bromo-2-piridil)oximetil]-3-fluoro-benzonitril**



10 Se dizolvă 2-bromo-6-fluoropiridină (2,50 g, 13,8 mmol) și 3-fluoro-4-(hidroximetil)benzonitril (2,15 g, 13,8 mmol) în 1,4-dioxan (25 mL) și se adaugă o soluție de terț-butoxid de potasiu (20% din masă în THF, 10,0 mL, 16,6 mmol) în picătură timp de 12 min la RT. Se încălzește amestecul de reacție la 40°C timp de 30 min. Se toarnă amestecul în K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> apos (1M) și se extrage de două ori cu EtOAc. Se spală organicele cu apă și soluție apoasă saturată de NaCl, se usucă pe Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtrează, și se concentrează. Se usucă reziduul într-un cuptor cu vid la 50°C pentru a da compusul din titlu (4,23 g, 95%) ca solid galben deschis. ES/MS *m/z* (<sup>79</sup>Br, <sup>81</sup>Br) 307,309 (M+H).

15 **Preparare 9**

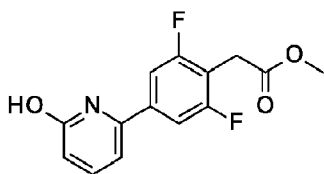
**2-[2-Fluoro-4-(6-hidroxi-2-piridil)-5-metil-fenil]acetat de metil**



20 La un flacon se adaugă esterul pinacol al acidului 6-hidroxipiridin-2-boronic (1,6 g, 6,9 mmol), 2-(4-bromo-2-fluoro-5-metil-fenil)acetat de metil (2,2 g, 8,4 mmol), THF (15 mL), apă (1 mL), și carbonat de potasiu (2,0 g, 14 mmol). Se purjează amestecul cu azot timp de 10 min, apoi se adaugă Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (0,26 g, 0,35 mmol) și se încălzește la 75°C timp de 2 ore. Se partiționează amestecul între EtOAc (30 mL) și apă (30 mL). Se spală organicele cu soluție apoasă saturată de NaCl (30 mL), se usucă pe Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtrează și se concentrează pentru a da compusul din titlu (1,4 g, 74%) ca solid. ES/MS *m/z* 276 (M+H), 274 (M-H).

25 **Preparare 10**

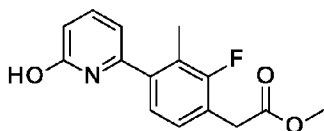
**2-[2,6-difluoro-4-(6-hidroxi-2-piridil)fenil]acetat de metil**



30 Se prepară compusul din titlu în mod esențial cum s-a descris în Preparare 9 utilizând 2-(4-bromo-2,6-difluorofenil)acetat de metil, încălzind reacția la 75°C peste noapte. ES/MS *m/z* 280 (M+H).

35 **Preparare 11**

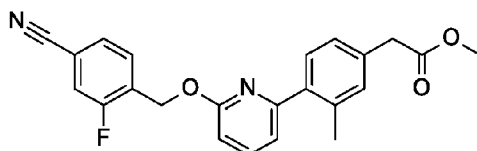
**2-[2-Fluoro-4-(6-hidroxi-2-piridil)-3-metil-fenil]acetat de metil**



Se prepară compusul din titlu în mod esențial cum s-a descris în Preparare 9 utilizând 2-(4-bromo-2-fluoro-3-metil-fenil)acetat de metil, încălzind reacția la 75°C peste noapte (18 ore). ES/MS *m/z* 276 (M+H), 274 (M-H).

40 **Preparare 12**

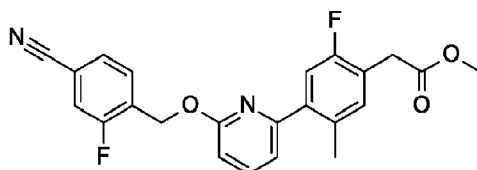
**2-[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-3-metil-fenil]acetat de metil**



Se dizolvă acidul 2-(4-bromo-3-metilfenil)acetic (10,7 g, 45,8 mmol) în DCM (50 mL). Se răcește amestecul într-o baie cu gheață/apă, și apoi se adaugă clorură de oxalil (4,8 mL, 55 mmol) și DMF (0,1 mL). Se îndepărtează baia cu gheață/apă și se agită la RT timp de 2 ore. Se adaugă MeOH (6,0 mL) în picătură timp de 2 min și se agită la RT timp de 1 oră. Se concentrează amestecul de reacție *in vid* și se dizolvă reziduu în EtOAc. Se spală organicele cu NaHCO<sub>3</sub> apos saturat și soluție apoasă saturată de NaCl. Se usucă organicele pe Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, apoi se filtrează și se concentrează. La reziduu se adaugă bis(pinacolato)diboron (12,8 g, 50,4 mmol) și acetat de potasiu (13,6 g, 137 mmol). Se barbotează azot prin amestecul de reacție timp de 15 min, apoi se adaugă Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (complex cu DCM, 1,13 g, 1,37 mmol). Se încălzește reacția sub azot la 85°C timp de 15 ore într-o baie cu ulei, apoi se îndepărtează flaconul de reacție din baia de ulei. Se dizolvă carbonat de potasiu (9,49 g, 68,7 mmol) în apă (60 mL), se barbotează azot prin soluție timp de 10 min, și apoi se adaugă această soluție la amestecul de reacție urmată de 4-[(6-bromo-2-piridil)oximetil]-3-fluoro-benzonitril (14,1 g, 45,8 mmol). Se barbotează azot prin întregul amestec de reacție timp de 5 min și se încălzește sub azot la 85°C timp de 6 ore. Se răcește reacția aproape de RT și se concentrează *in vid* pentru a îndepărta majoritatea 1,4-dioxanului. S-a diluat acest amestec cu EtOAc (200 mL) și s-a spălat cu apă și soluție apoasă saturată de NaCl. Se usucă organicele pe Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, apoi se filtrează și se concentrează. Se purifică produsul brut prin cromatografie pe gel de siliciu utilizând un gradient de 5 până la 50% EtOAc în hexani pentru a da compusul din titlu (13,3 g, 70%) ca solid galben deschis. ES/MS *m/z* 391 (M+H).

#### 20 **Preparare 13**

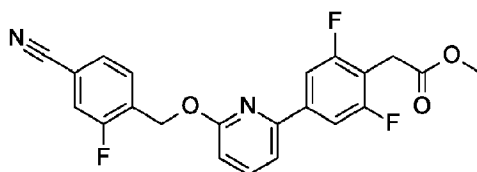
##### **2-[4-[6-[(4-Ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2-fluoro-5-metilfenil]acetat de metil**



La un flacon se adaugă 2-[2-fluoro-4-(6-hidroxi-2-piridil)-5-metilfenil]acetat de metil (1,40 g, 5,09 mmol), 1,4-dioxan (35 mL), carbonat de argint (1,7 g, 6,2 mmol), și 4-(bromometil)-3-fluorobenzonitril (1,4 g, 6,2 mmol). Se încălzește amestecul la 60°C peste noapte. Se filtrează solidul și se concentrează filtratul. Se purifică reziduu prin cromatografie pe gel de siliciu utilizând 12 până la 55% EtOAc în hexani pentru a da compusul din titlu (1,60 g, 77%) ca solid. ES/MS *m/z* 409 (M+H), 407 (M-H).

#### 30 **Preparare 15**

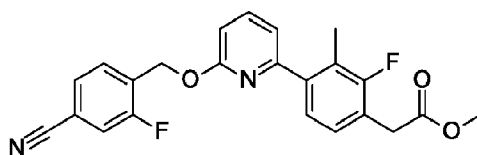
##### **2-[4-[6-[(4-Ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2,6-difluorofenil]acetat de metil**



Se prepară compusul din titlu în mod esențial cum s-a descris în Preparare 13 utilizând 2-[2,6-difluoro-4-(6-hidroxi-2-piridil)fenil]acetat de metil, încălzind reacția la 80°C peste noapte. ES/MS *m/z* 413 (M+H).

#### **Preparare 16**

##### **2-[4-[6-[(4-Ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2-fluoro-3-metilfenil]acetat de metil**

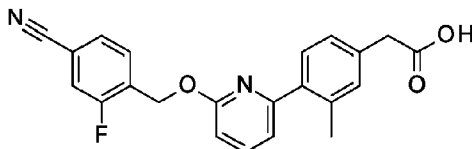


40

Se prepară compusul din titlu în mod esențial cum s-a descris în Preparare 13 utilizând 2-[2-fluoro-4-(6-hidroxi-2-piridil)-3-metil-fenil]acetat de metil, încălzind reacția la 80°C timp de 3 ore. ES/MS  $m/z$  409 (M+H).

**Preparare 17**

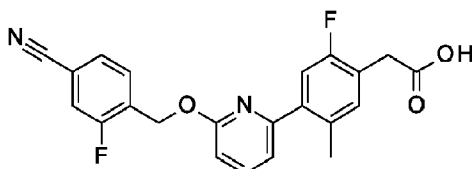
- 5 **Acid 2-[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-3-metil-fenil]acetic**



- 10 La un flacon se adaugă 2-[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-3-metil-fenil]acetat de metil (1,20 g, 3,07 mmol), ACN (20 mL), apă (10 mL), și hidroxid de litiu (0,35 g, 15 mmol). Se încălzește amestecul la 45°C timp de 3 ore. Se răcește amestecul într-o baie cu gheață și se acidulează cu 1,0 M HCl la pH = 4-5. Se partiționează amestecul între EtOAc (30 mL) și apă (30 mL). Se spală organicele cu saramură (30 mL), se usucă pe Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtrează, și se concentrează pentru a da compusul din titlu (1,1g, 95%) ca solid. ES/MS  $m/z$  377 (M+H).

**Preparare 18**

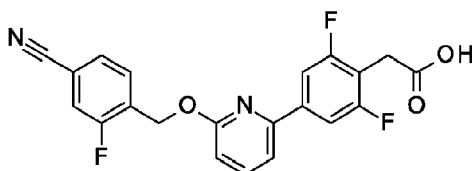
- 15 **Acid 2-[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2-fluoro-5-metil-fenil]acetic**



- 20 La o fiolă se adaugă 2-[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2-fluoro-5-metil-fenil]acetat de metil (1,6 g, 3,9 mmol), ACN (20 mL), apă (6 mL), și hidroxid de litiu (0,45 g, 19 mmol). Se încălzește amestecul la 45°C timp de 2 ore, se răcește amestecul într-o baie cu gheață, și se acidulează cu 1,0 M HCl la pH = 4-5. Se partiționează amestecul între EtOAc (50 mL) și apă (50 mL). Se spală organicele cu soluție apoasă saturată de NaCl (50 mL), se usucă pe Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtrează și se concentrează pentru a da compusul din titlu (1,55g, 100%) ca solid. ES/MS  $m/z$  395 (M+H).

**Preparare 20**

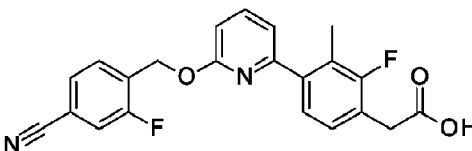
- 25 **Acid 2-[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2,6-difluoro-fenil]acetic**



Se prepară compusul din titlu în mod esențial cum s-a descris în Preparare 18 utilizând 2-[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2,6-difluoro-fenil]acetat de metil. ES/MS  $m/z$  399 (M+H).

**Preparare 21**

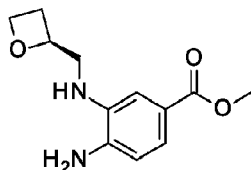
- 30 **Acid 2-[4-[6-[(4-Ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2-fluoro-3-metil-fenil] acetic**



- 35 Se prepară compusul din titlu în mod esențial cum s-a descris în Preparare 17 utilizând 2-[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2-fluoro-3-metil-fenil]acetat de metil. ES/MS  $m/z$  395 (M+H).

**Preparare 23**

- 4-Amino-3-[[2S]-oxetan-2-ilmetil]amino]benzoat de metil**

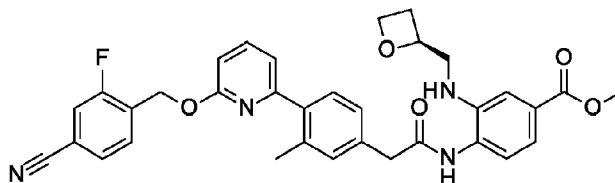


La o soluție de 3-fluoro-4-nitro-benzoat de metil (2,0 g, 10 mmol) în THF (10 mL) și DMF (10 mL) se adaugă trietilamină (3,1 mL, 22 mmol) la RT. La soluția ușor galbenă se adaugă [(2S)-oxetan-2-il]metanamină (Austin Chemical Company, 1,0 g, 11 mmol) și se agită soluția colorată ruginiu peste noapte. S-a diluat reacția cu EtOAc (100 mL) și apă (50 mL). S-a separat stratul organic și apoi s-a extras înapoi stratul apos cu EtOAc (2 × 50 mL). Se combină organicele și se spală cu soluție apoasă saturată de NaCl. Se usucă organicele pe Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtrează, se concentrează, și se usucă reziduul sub vid înaintat. Acesta dă 4-nitro-3-[[2-(S)-oxetan-2-ilmetil]amino] benzoat de metil brut (2,8 g, 10 mmol) ca solid galben (ES/MS *m/z* 267 (M+H)).

În continuare, se dizolvă 4-nitro-3-[[2-(S)-oxetan-2-ilmetil]amino]benzoatul de metil (2,8 g, 10 mmol) în THF (50 mL) și se adaugă paladiu pe carbon (5% preumezit cu apă, 0,5 g). Se purjează în vid amestecul de reacție cu hidrogen apoi se agită sub un balon de hidrogen la RT timp de 2 ore, timp în care culoarea galbenă dispare. Se filtrează amestecul prin Celite® și se concentrează pentru a da compusul din titlu (2,4g, 99%). ES/MS *m/z* 237 (M+H).

#### Preparare 24

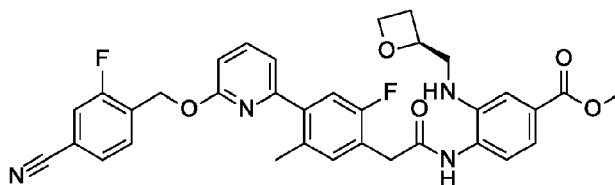
**4-[[2-[4-[6-[(4-Ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-3-metilfenil]acetil]amino]-3-[[2-(S)-oxetan-2-ilmetil]amino]benzoat de metil**



La o fiolă se adaugă acid 2-[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-3-metilfenil]acetic (1,10 g, 2,92 mmol), DMF (10 mL), HATU (1,4 g, 3,6 mmol), 4-amino-3-[[2-(S)-oxetan-2-ilmetil]amino]benzoat de metil (0,76 g, 3,2 mmol), și DIPEA (1,5 mL, 8,6 mmol). Se agită amestecul la RT timp de 30 min, apoi se partiționează între EtOAc (30 mL) și apă (30 mL). Se spală organicele cu soluție apoasă saturată de NaCl (30 mL), apoi se usucă pe Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtrează, și se concentrează. Se purifică reziduul prin cromatografie pe gel de siliciu utilizând un gradient de 10 până la 35% EtOAc în DCM pentru a da compusul din titlu (1,2 g, 69%) ca solid. ES/MS *m/z* 595 (M+1), 593 (M-1).

#### Preparare 25

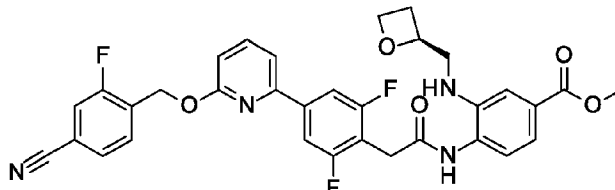
**4-[[2-[4-[6-[(4-Ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2-fluoro-5-metilfenil]acetil] amino]-3-[[2-(S)-oxetan-2-ilmetil]amino]benzoat de metil**



La un flacon se adaugă: acid 2-[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2-fluoro-5-metilfenil]acetic (1,20 g, 3,04 mmol), DMF (15 mL), HATU (1,2 g, 3,1 mmol), 4-amino-3-[[2-(S)-oxetan-2-ilmetil]amino]benzoat de metil (0,80 g, 3,4 mmol) și DIPEA (1,5 mL, 8,6 mmol). Se agită amestecul la RT timp de 30 min, apoi se partiționează între EtOAc (30 mL) și apă (30 mL). Se spală organicele cu soluție apoasă saturată de NaCl (30 mL), apoi se usucă pe Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtrează și se concentrează. Se purifică reziduul prin cromatografie pe gel de siliciu utilizând un gradient de 10 până la 35% EtOAc în DCM pentru a da compusul din titlu ca solid (1,20 g, 64%). ES/MS *m/z* 613 (M+1), 611 (M-H).

#### Preparare 27

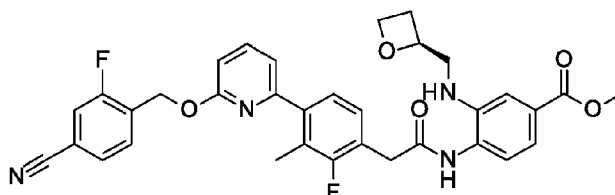
**4-[[2-[4-[6-[(4-Ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2,6-difluorofenil]acetil] amino]-3-[[2-(S)-oxetan-2-ilmetil]amino]benzoat de metil**



Se prepară compusul din titlu în mod esențial cum s-a descris în Preparare 24 utilizând acid 2-[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2,6-difluoro-fenil]acetic. Se colectează produsul care precipită în timpul prelucrării apoase prin filtrare și se utilizează fără purificare suplimentară. ES/MS  $m/z$  617 (M+H), 615 (M-H).

#### Preparare 28

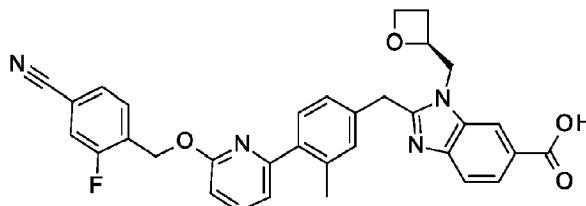
**4-[[2-[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2-fluoro-3-metil-fenil]acetil]amino]-3-[[2S]-oxetan-2-il]metil]amino]benzoat de metil**



Se prepară compusul din titlu în mod esențial cum s-a descris în Preparare 24 utilizând acidul 2-[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2-fluoro-3-metil-fenil] acetic. ES/MS  $m/z$  613 (M+H), 611 (M-H).

#### Exemplul 1

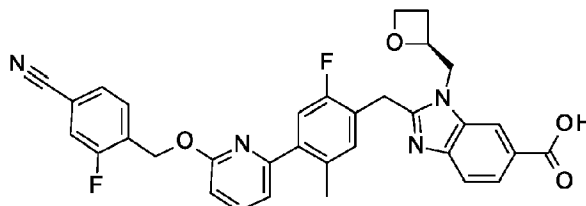
**Acid 2-[[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-3-metil-fenil]metil]-3-[[2S]-oxetan-2-il]metil]benzimidazol-5-carboxilic**



La o fiolă se adaugă 4-[[2-[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-3-metil-fenil]acetil]amino]-3-[[2S]-oxetan-2-il]metil]amino]benzoat de metil (1,2 g, 2,0 mmol) și acid acetic (6 mL). Se încălzește amestecul la 80°C timp de 2 ore, apoi se îndepărtează solutul *in vid*. Se partiționează reziduul între EtOAc (30 mL) și NaHCO<sub>3</sub> apos (5%, 20 mL). Se spală organicele cu soluție apoasă saturată de NaCl (30 mL), se usucă pe Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtrează, și se concentrează. Se dizolvă reziduul în ACN (5 mL) și apă (3 mL), apoi se adaugă la amestec LiOH (0,22 g, 9,2 mmol) și se agită la 50°C timp de 2 ore. Se îndepărtează solutul *in vid*. Se purifică reziduul prin cromatografie rapidă cu fază inversă utilizând un gradient de 20 până la 35% ACN în 5% NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> apos pentru a da compusul din titlu (900 mg, 79%) ca solid. ES/MS  $m/z$  563 (M+H), 561 (M-H).

#### Exemplul 2

**Acid 2-[[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2-fluoro-5-metil-fenil]metil]-3-[[2S]-oxetan-2-il]metil]benzimidazol-5-carboxilic**

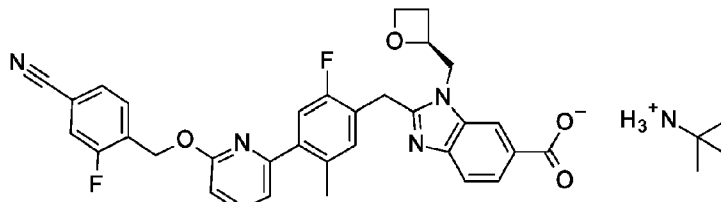


La o fiolă se adaugă 4-[[2-[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2-fluoro-5-metil-fenil]acetil]amino]-3-[[2S]-oxetan-2-il]metil]amino]benzoat de metil (1,20 g, 1,96 mmol) și acid acetic (15 mL), apoi se încălzește amestecul la 80°C timp de 2 ore. Se îndepărtează solutul *in vid*. Se partiționează reziduul între EtOAc (30 mL) și NaHCO<sub>3</sub> apos (5%, 20 mL). Se spală organicele cu soluție apoasă saturată de NaCl (30 mL), se usucă pe Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtrează, și se concentrează. Se dizolvă reziduul

în ACN (10 mL) și apă (4 mL), apoi se adaugă la amestec LiOH (0,24 g, 10 mmol) și se agită la 50°C timp de 2 ore. Se acidulează amestecul cu acid citric apos saturat la pH = 4-5. Se îndepărtează solvenții *in vid*. Se purifică rezidul prin cromatografie rapidă cu fază inversă utilizând un gradient de 20 până la 35% ACN în 5% NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> apos pentru a da compusul din titlu (745 mg, 66%) ca solid. ES/MS *m/z* 581 (M+H), 579 (M-H).

#### Exemplul 2a

**terț-butilamoniu;2-[[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2-fluoro-5-metil-fenil]metil]-3-[[2(S)-oxetan-2-il]metil]benzimidazol-5-carboxilat**



#### Metoda 1 - preparare fără cristale de însămânțare

Se suspendă acidul 2-[[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2-fluoro-5-metil-fenil]metil]-3-[[2(S)-oxetan-2-il]metil]benzimidazol-5-carboxilic (555 mg, 0,96 mmol) în acetonă (6 mL) în timp ce se agită la 800 rpm la 50°C, dând o suspensie de solid alb. Se adaugă terț-butilamină (115 μL, 1,09 mmol, 1,14 echiv.) observând o scurtă clarificare a amestecului urmată de precipitarea unui solid alb. Se agită această suspensie la 50°C timp de 1 oră, apoi se oprește încălzirea și se lasă mostra să se agite până când ea revine la RT. Se filtrează solidul prin filtrare *in vid* și se usucă pe loc timp de 15 min sub un curent de azot, apoi se usucă *in vid* la 50°C timp de 1 oră pentru a da compusul din titlu (612 mg, 98%).

#### Metoda 2 - preparare cu cristale de însămânțare

Se amestecă împreună acidul 2-[[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2-fluoro-5-metil-fenil]metil]-3-[[2(S)-oxetan-2-il]metil]benzimidazol-5-carboxilic (50 g, 86,1 mmol), acetona (658 mL), și apa (42 mL), și se încălzește amestecul la 50°C. Se filtrează amestecul pe hârtie GF/F și se clătește cu 94:6 v:v acetonă:apă (25 mL). Se încălzește soluția rezultată la 50°C. Se prepară o soluție de terț-butilamină (10 mL, 94,7 mmol, 1,1 echiv.) și 94:6 v:v acetonă:apă (25 mL). Se adaugă o porțiune de soluție de terț-butilamină (7 mL) urmată de cristale de însămânțare de terț-butilamoniu;2-[[4-[6-[(4-ciano-2-fluorofenil)metoxi]-2-piridil]-2-fluoro-5-metil-fenil]metil]-3-[[2(S)-oxetan-2-il]metil]benzimidazol-5-carboxilat (50 mg). Se adaugă soluția de terț-butilamină rămasă timp de aproximativ 1 oră printr-o pompă cu seringă la o rată de 0,47 mL/min. Se încălzește suspensia rezultată la 50°C timp de 2 ore, apoi se răcește amestecul la temperatura ambiantă peste noapte. Se filtrează suspensia și se clătește cu acetonă (2 × 100 mL). Se usucă turta umedă la 50°C *in vid* la o greutate constantă pentru a da compusul din titlu (51,8 g, 92%) ca solid galben pal.

O mostră preparată a compusului din titlu este caracterizată printr-un tipar XRD utilizând radiație CuKα ca având maxime de difracție (valori 2-teta) cum s-a descris în Tabelul 1 de mai jos, și în particular având maxime la 6,9 în combinație cu unul sau mai multe maxime selectate din grupul constând din 16,3 și 22,5; cu o toleranță pentru unghiurile de difracție de 0,2 grade.

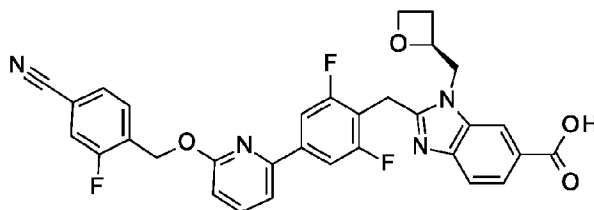
**Tabelul 1. Maximele de difracție cu raze X pe pulbere de terț-butilamoniu;2-[[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2-fluoro-5-metil-fenil]metil]-3-[[2(S)-oxetan-2-il]metil]benzimidazol-5-carboxilat**

Maxim	Unghi (°2-Teta) +/- 0,2°	Intensitate relativă (% al maximelor cele mai intense)
1	5,5	26,20%
2	6,9	64,90%
3	11,2	49,20%
4	16,3	100,00%
5	17,1	34,70%
6	19,6	53,00%
7	21,8	43,10%
8	22,5	93,80%
9	27,3	41,10%

Maxim	Ungchi ( $^{\circ}$ 2-Teta) +/- 0,2 $^{\circ}$	Intensitate relativă (% al maximelor cele mai intense)
10	28,0	37,90%

**Exemplul 4**

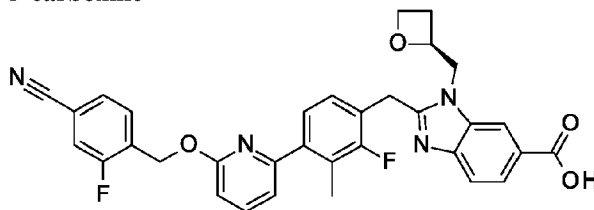
**Acid 2-[[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2,6-difluoro-fenil]metil]-3-[(2S)-oxetan-2-ilmetil]benzimidazol-5-carboxilic**



S-a preparat compusul din titlu în mod esențial cum s-a descris în Exemplul 1 utilizând 4-[[2-[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2,6-difluorofenil]acetil] amino]-3-[(2S)-oxetan-2-ilmetil]amino]benzoat de metil. Se purifică produsul prin cromatografie rapidă cu fază inversă utilizând un gradient de 30 până la 50% ACN în  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  apos (10 mM, pH 10). ES/MS  $m/z$  585 (M+H), 583 (M-H).

**Exemplul 5**

**Acid 2-[[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2-fluoro-3-metilfenil]metil]-3-[(2S)-oxetan-2-il]metil]benzimidazol-5-carboxilic**



Se prepară compusul din titlu în mod esențial cum s-a descris în Exemplul 2 utilizând 4-[[2-[4-[6-[(4-ciano-2-fluoro-fenil)metoxi]-2-piridil]-2-fluoro-3-metilfenil]acetil] amino]-3-[(2S)-oxetan-2-ilmetil]amino]benzoat de metil. Se purifică produsul prin cromatografie rapidă cu fază inversă utilizând un gradient de 5 până la 40% ACN în 5%  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  apos. ES/MS  $m/z$  581 (M+H), 579 (M-H).

**Teste biologice****Test AMPc al celulelor HEK293 ale receptorului GLP-1 uman**

Activitatea funcțională a receptorului GLP-1 este determinată utilizând formarea AMPc într-o linie celulară clonală HEK293 care exprimă GLP-1R uman (număr de acces NCBI NP\_002053) la o densitate de expresie de  $581 \pm 94$  ( $n=6$ ) și  $104 \pm 12$  ( $n=5$ ) fmol/mg proteină (determinată utilizând analiza de legare competițională a omologului [ $^{125}\text{I}$ ]GLP-1(7-36) $\text{NH}_2$ ). Receptorul hGLP-1R care exprimă celulele este tratat cu compus (curbă de răspuns la concentrație în 20 de puncte în DMSO, diluție directă Labcyte Echo de 2,75 ori, placă cu 384 godeuri Corning Cat# 3570) în DMEM (Gibco Cat# 31053) suplimentată cu 1X GlutaMAX™ (Gibco Cat# 35050), 0,1% caseină bovină (Sigma C4765-10ML), 250  $\mu\text{M}$  IBMX (3-Izobutil-1-metilxantină, Acros Cat# 228420010) și 20 mM HEPES (Gibco Cat# 15630) într-un volum de test de 20  $\mu\text{L}$  (concentrația DMSO finală este de 0,5%). După o incubare de 30 de min la 37 $^{\circ}\text{C}$ , creșterea rezultată în AMPc intra celular este determinată cantitativ utilizând trusa de test CisBio AMPc Dynamic 2 HTRF (62AM4PEJ). Pe scurt, nivelurile AMPc din celulă sunt detectate prin adăugarea conjugatului AMPc-d2 în tampon de lizare celulară (10  $\mu\text{L}$ ) urmată de anticorpul anti-AMPc-Eu $^{3+}$ -Cryptate, de asemenea în tampon de lizare celulară (10  $\mu\text{L}$ ). Rezultatele testului competitiv sunt incubate timp de cel puțin 60 min la RT, apoi detectate utilizând un instrument PerkinElmer Envision® cu excitație la 320 nm și emisie la 665 nm și 620 nm. Unitățile Envision (emisie la 665nm/620nm \* 10,000) sunt invers proporționale cu cantitatea de AMPc prezent și sunt convertite la nM AMPc per godeu utilizând o curbă standard AMPc. Cantitatea de AMPc generată (nM) în fiecare godeu este convertită la un procent din răspunsul maxim observat cu GLP-1(7-36) $\text{NH}_2$  uman. O valoare  $\text{EC}_{50}$  relativă și valoarea procentuală maximă ( $E_{\text{max}}$ ) sunt derivate din analiza de regresie neliniară utilizând răspunsul procentual maxim vs. concentrația de compus adăugat, ajustată la o ecuație logistică cu patru parametri. Datele  $\text{EC}_{50}$  și  $E_{\text{max}}$  când compuşii din exemplele 1, 2, 4 și 5 sunt testați în testul AMPc descris mai sus utilizând celule HEK293 care exprimă 581 și 104 fmol/mg GLP-1R sunt prezentate în Tabelele 2 și 3, respectiv. Aceste date au indicat că compuşii din exemplele 1, 2, 4 și 5 sunt agoniști ai receptorului GLP-1 uman.

**Tabelul 2. Linie celulară HEK293 cu densitate de expresie de 581 fmol/mg a GLP-1R, răspuns AMPc intracelular**

Exemplu	EC <sub>50</sub> (nM) ± SEM (n)	E <sub>max</sub> (%) ± SEM (n)
1	9,33 ± 1,36 (n = 6)	99,5 ± 2,53 (n = 6)
2	1,14 ± 0,315 (n = 6)	104 ± 4,35 (n = 6)
4	3,99 ± 0,378 (n = 3)	99,2 ± 4 (n = 3)
5	6,45 ± 0,934 (n = 3)	105 ± 2,43 (n = 3)

**Tabelul 3. Linie celulară HEK293 cu densitate de expresie de 104 fmol/mg a GLP-1R, răspuns AMPc intracelular**

Exemplu	EC <sub>50</sub> (nM) ± SEM (n)	E <sub>max</sub> (%) ± SEM (n)
1	20 ± 3,25 (n = 6)	71,4 ± 2,26 (n = 6)
2	3,97 ± 0,61 (n = 6)	79,2 ± 3,2 (n = 6)
4	9,59 ± 2,36 (n = 3)	78,3 ± 5,1 (n = 3)
5	23,6 ± 5,43 (n = 3)	76,7 ± 3,88 (n = 3)

5

**Test de toleranță la glucoza intraperitoneală *in vivo* la șoarecii knock-in GLP-1R umani**

Potența compușilor exemplificați la o concentrație mai scăzută de glucoză în sânge *in vivo*, este determinată utilizând șoareci care exprimă GLP-1R uman (număr de acces NCBI NP\_002053) de la locusul genetic *Glp-1r* de șoarece (Jun, L.S., și colab., PLoS One. 2014 9:e93746). Șoarecilor înfometaji peste noapte le este administrat oral compusul de test solubilizat în 10% Kolliphor® (HS15) în polietilenglicol 400 (PEG400). La o oră după doză, animalelor le este administrată glucoză prin injecție intraperitoneală (2 g/kg), și sunt măsurate nivelurile de glucoză din sânge intermitent în următoarele două ore utilizând glucometre. Este furnizat un interval de dozare al compusului de test, și calculele ariei de sub curbă pentru fiecare grup de dozare sunt determinate și ajustate la un model logistic cu patru parametri pentru calcularea potenței *in vivo* ca un ED<sub>50</sub> cu un interval de încredere de 95%. Când sunt testați în testul de toleranță la glucoza intraperitoneală *in vivo* descris mai sus, compușii din Exemplele 1 și 2 prezintă potență la concentrații mai scăzute de glucoză în sânge la șoarecii care exprimă GLP-1R uman cu valori ED<sub>50</sub> (și interval de încredere de 95%) așa cum se arată în Tabelul 4, care indică faptul că acești compuși sunt agonisți GLP-1R disponibili oral la șoareci.

20

**Tabelul 4. Eficacitatea scăderii glucozei în sânge la șoarecii care exprimă GLP-1R uman**

Exemplu	ED <sub>50</sub> a scăderii glucozei în sânge (mg/kg)	Interval de încredere de 95%
1	0,09	0,0301-0,2592
2	0,07	0,0246-0,1808

**Farmacocinetici ale primatului neuman (NHP):**

Compusul de testat este administrat intravenos (IV) maimuțelor cynomolgus masculi înfometate (IV) la 0,5 mg/kg (utilizând un volum de dozare de 1 mL/kg). Probele de sânge seriale sunt colectate la 0,08, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12, și 24 ore după dozare pentru bolusul IV. După tratamentul cu un coagulant EDTA, plasma este obținută prin centrifugare și depozitată la -70°C până la analiza prin LC-MS/MS. Se determină concentrația articolului de test în plasmă. Este utilizată analiza noncompartimentală pentru a calcula eliminarea plasmatică și volumul de distribuție în starea de echilibru. Tabelul 5 prezintă datele farmacocinetice ale compușilor din Exemplele 1 și 2 din acest test. Aceste date, sunt utilizate parțial pentru a informa proiecțiile PK mecaniciste umane care sugerează un profil farmacocinetic uman pentru a susține o dozare o dată pe zi.

30

**Tabelul 5. Date farmacocinetice ale maimuțelor cynomolgus**

Exemplu	Eliminarea plasmatică (mL/min/kg)	Volum de distribuție (L/kg)	Vehicul *
1	13	1,2	A
2	11	1,1	A

\*Vehicul A - 5% DMSO și 95% (20% CAPTISOL® (m/v) în apă; Vehicul B - 20% captisol (m/v) în apă + 1 mol echivalent NaOH

**Test al activității enzimice a fosfodiesterazei 10 (PDE10)**

Pentru a genera proteina fosfodiesterază 10A1 (PDE10A1), o clonă cu lungime completă PDE10A1 corespunzătoare ID GenBank AAD32595.1 este clonată în pFastBac1 (Invitrogen). Proteina PDE10A1 cu o etichetă FLAG C-terminală este exprimată prin baculoinfecția virală a celulelor de insecte și purificată utilizând M2-agaroză anti-FLAG (Sigma) și cromatografie de excludere dimensională pe o coloană Superdex 200 (GE Healthcare) și depozitată la -80°C în alicote mici (20 mM Tris-HCl, Ph 7,5, 150 mM NaCl, 10% Glicerol).

Activitățile enzimei PDE10A1 sunt măsurate cu un silicat de ytriu pe baza unui test de proximitate a scintilației (SPA) care detectează monofosfații nucleotidei radioactive dar nu și monofosfații ciclici. Tamponul de testare este compus din 50 mM Tris-HCl pH 7,5, 8 mM MgCl<sub>2</sub>, 3,4 mM EDTA, și 0,1% BSA (Sigma). Testele sunt efectuate în plăci cu 384 de godeuri (3706, Corning) într-un volum total de 50 μl: compus din 24 μl de enzimă PDE10A1, 1 μl compus de testat și 25 μl de nucleotidă ciclică. Compuși testați sunt diluați în DMSO pur utilizând curbe de răspuns la concentrație în zece puncte cu un factor de diluție de 3 ori și 1 μl este dispensat acustic în plăcile de testare utilizând Echo555 (LabCyte). 24 μl de proteină PDE10A1 sunt incubati cu 1 μl compus timp de 30 min înainte ca reacția să fie începută prin adăugarea unui substrat [8-<sup>3</sup>H]-cGMP (6,5 Ci/mmol, Perkin Elmer). Concentrația finală de componente este de 70 pM PDE10A1, 80 nM (<sup>3</sup>H -cGMP), și 2% DMSO în tampon de testare. Concentrația maximă de compus din amestecul de reacție este 10 μM. Reacțiile sunt incubate timp de 60 min la RT înainte de stingerea și adăugarea a 400 mg/per godeu perle SPA (RPNQ0150, Perkin Elmer). Radioactivitatea legată de perle (produs) este cuantificată 12 ore mai târziu cu un contor Microbeta (Perkin Elmer). Datele sunt normalizate la % inhibare și valorile IC<sub>50</sub> sunt calculate utilizând ecuația logistică cu 4 parametri cum s-a descris (Campbell, R.M.; Dymshitz, J.; Eastwood, B.J.; și colab. „Date Standardization for Results Management.” In: Sittampalam, G.S.; Grossman, A.; Brimacombe, K.; și colab.; eds. Assay Guidance Manual. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company și the National Center for Advancing Translational Sciences; 2004.). Tabelul 6 prezintă activitatea compușilor din Exemplele 1, 2 și 4 în acest test. Aceste date arată că compușii din Exemplele 1, 2 și 4 au slabă afinitate de legare la PDE10A, ceea ce indică un risc redus de toxicitate.

**Tabelul 6. Potența *in vitro* pentru inhibarea PDE10A1**

Exemplu	IC <sub>50</sub> (μM), n = 1
1	>10
2	7,43
4	5,41

**Test de legare de afinitate al radioligandului canalului hERG K<sup>+</sup> uman**

Afinitatea compușilor pentru canalul hERG K<sup>+</sup> uman în celulele HEK-293 transfectate este evaluată într-un test de legare al radioligandului cum s-a descris aici. Omogenații membranei celulare (proteină de aproximativ 40 μg) sunt incubati timp de 60 min la 22°C cu 3 nM [<sup>3</sup>H]dofetilidă în absența sau prezența compusului de testat într-un tampon conținând 50 mM Tris-HCl (pH 7,4), 10 mM KCl și 1 mM MgCh. Testul este efectuat într-o placă cu 96 de godeuri formată cu un volum de 200 μL, conținând un maximum de 1% DMSO din solubilizarea inițială a compusului de testat. După incubare, mostrele sunt filtrate rapid sub vid prin filtre din fibră de sticlă (GF/B, Packard) preînmuiate cu 0,3% PEI și clătite de câteva ori cu 50 mM Tris-HCl rece cu gheață, 10 mM KCl și 1 mM MgCh utilizând un recoltator de celule cu 96 de mostre (Unifilter, Packard). Filtrele sunt uscate și apoi numărate pentru radioactivitate într-un contor cu scintilație (Topcount, Packard) utilizând un cocktail de scintilație (Microscint 0, Packard). Tabelul 7 prezintă activitatea din Exemplele 1 și 2 în acest test, exprimată ca inhibare procentuală din legarea specifică a radioligandului de control. Aceste date arată că compușii din Exemplele 1 și 2 au slabă activitate inhibitoare hERG, ceea ce indică un risc de toxicitate redus.

**Tabelul 7. Inhibare procentuală a afinității radioligandului canalului hERG K<sup>+</sup> uman**

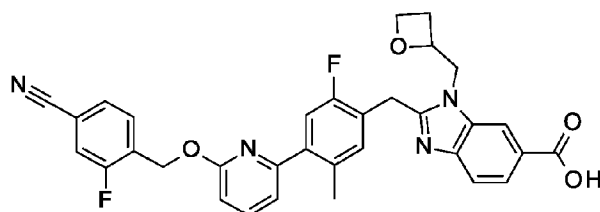
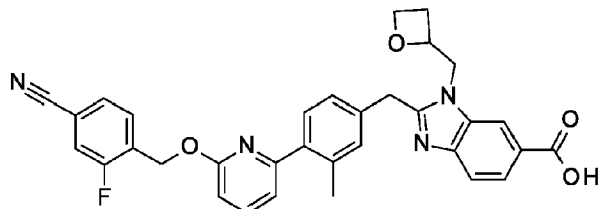
Exemplu	Inhibare procentuală (%) la 100 μM concentrație de compus, n = 1
1	0
2	54

**(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:**

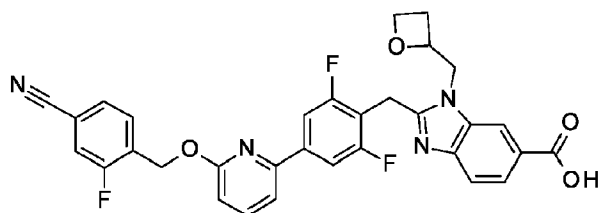
- WO-A1-2018/109607

**(57) Revendicări:**

1. Un compus selectat dintre:

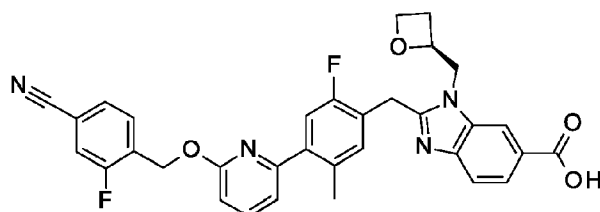
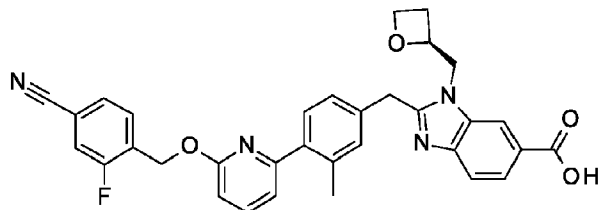


și

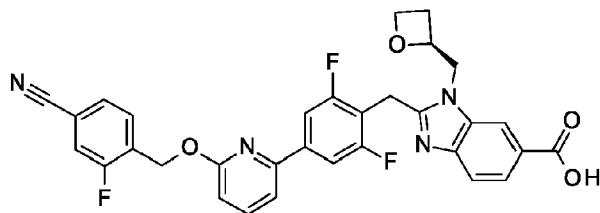


sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia.

2. Compusul în conformitate cu revendicarea 1 selectat dintre:

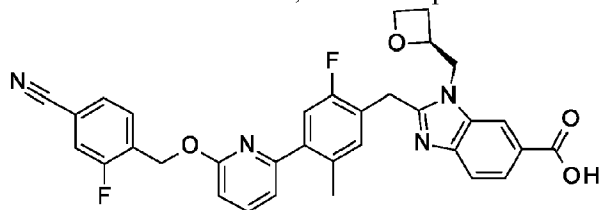


și



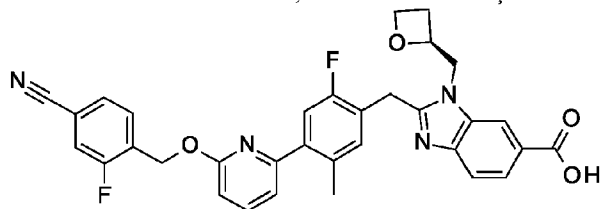
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

3. Compusul în conformitate cu revendicarea 2, în care compusul este:

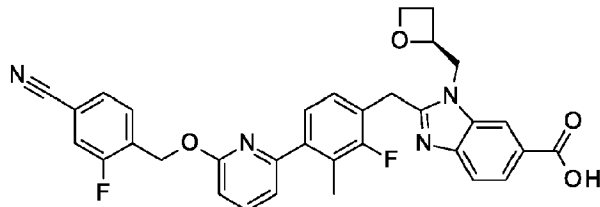


sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

4. Compusul în conformitate cu revendicarea 3, care este sarea terț-butilamină a:



5. Un compus care este:



6. O compoziție farmaceutică cuprinzând un compus, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în conformitate cu oricare dintre revendicările 1 până la 5 și cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic, diluant, sau excipient.

7. Un compus, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în conformitate cu oricare dintre revendicările 1 până la 5 pentru utilizare în terapie.

8. Un compus, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în conformitate cu oricare dintre revendicările 1 până la 5 pentru utilizare în tratamentul diabetului zaharat de tip II.

9. Un compus, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în conformitate cu oricare dintre revendicările 1 până la 5 pentru utilizare în scăderea nivelurilor de glucoză din sânge.

10. Un compus, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în conformitate cu oricare dintre revendicările 1 până la 5 pentru utilizare în tratamentul hiperglicemiei.

11. Un compus, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare conform oricăreia dintre revendicările 7 până la 10, în care compusul este pentru administrare orală.